THESIS Leiden 1963

ONDERZOEKINGEN OVER DE BIJNIERSCHORSFUNCTIE TIJDENS EN NA EEN ACUTE ERNSTIGE INFECTIEZIEKTE

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

RADEN JOHN DJAJADININGRAT

ONDERZOEKINGEN OVER DE BIJNIERSCHORSFUNCTIE TIJDENS EN NA EEN ACUTE INFECTIEZIEKTE

ONDERZOEKINGEN OVER DE BIJNIERSCHORSFUNCTIE TIJDENS EN NA EEN ACUTE ERNSTIGE INFECTIEZIEKTE

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE LEIDEN, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS DR. W. DEN BOER, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN, TEN OVERSTAAN VAN EEN COMMISSIE UIT DE SENAAT TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG 11 DECEMBER 1963 TE 16 UUR

DOOR

RADEN JOHN DJAJADININGRAT

geboren te Djakarta in 1926

LEIDEN
MCMLXIII
SAINT LVCAS SOCIETY

PROMOTOR: PROF. DR. W. R. O. GOSLINGS

Voor Iskandar, Marjam en Gita.

Het onderzoek werd verricht in de Afdeling Microbiële Ziekten (hoofd: Prof Dr. W. R. O. Goslings) van het Academisch Ziekenhuis te Leiden.

Mej. C. C. van Niekerk en Mej. M. L. Groeneveld waren behulpzaam bij het verrichten van de chemische bepalingen.

Het zorgvuldig verzamelen van 24 uurs urine, in de periode dat de patiënten nog ziek waren, werd mogelijk gemaakt door het nauwkeurig toezicht van Mej. Zr M. A. de Wilde.

De figuren werden vervaardigd door de Heer J. J. Magdelijns.

SU-4885 (Metopiron) werd beschikbaar gesteld door Ciba N. V.

De statistische bewerking van de gegevens betreffende de biologische half-waarde tijden werd verricht door T. N. O., Afdeling Bewerking Waarnemingsuitkomsten.

INHOUD

Inleiding en doelstelling.		1
Hoofdstuk I	: Literatuur bespreking.	5
Hoofdstuk II	: Methoden van onderzoek.	22
Hoofdstuk III	: De functie van de bijnierschors bij ernstige infecties gedurende de eerste opnamedagen.	41
Hoofdstuk IV	: De functie van de bijnierschors bij ernstige infecties gedurende het verdere beloop van de ziekte en de periode van herstel.	60
Hoofdstuk V	: Functionele reserve van hypophyse en bijnierschors in de periode met verlaagde 17 kgs en 17 ks excretie.	70
Hoofdstuk VI	: Nabeschouwing.	74
Samenvatting.		82
Summary.		85
Literatuur.		88

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/onderzoekingenov0000rade

INLEIDING EN DOELSTELLING

Over de werking van glucocorticoiden bij experimentele infecties bij proefdieren zijn reeds veel gegevens verzameld (overzicht van Kass en Finland, 1953 en 1957). Naast de remmende werking op de ontstekingsreactie opgeroepen door de infectie, kent men de bevorderende werking ten aanzien van het binnendringen en de verspreiding van de micro-organismen. Verder bleken de glucocorticoiden een zekere beschermende werking te hebben tegen de uitwerking van bacteriële toxinen mits niet te lang na deze toxinen toegediend. Mede op grond van de waarnemingen bij het Waterhouse-Friderichsen syndroom, waarbij naar aanleiding van de hierbij gevonden bijnierbloedingen een hypofunctie van de bijnier werd gepostuleerd, hebben genoemde waarnemingen ertoe geleid dat in de menselijke praktijk glucocorticoiden in toenemende mate werden gebruikt bij infectieus-toxische processen al dan niet gepaard met vasculaire collaps.

Vóór de aanvang van het in dit proefschrift beschreven onderzoek werd door ons in de Afdeling Microbiële Ziekten van het Academisch Ziekenhuis te Leiden van dergelijke patiënten reeds incidenteel de excretie van 17-keto-steroiden bepaald. Dit geschiedde steeds enige dagen na opneming, daar nauwkeurig verzamelen van 24 uurs urine in de eerste opnamedagen vaak aan grote moeilijkheden (incontinentie, onvermogen op tijd uit te urineren) gebonden was. De uitslagen leverden steeds

lage waarden op indien deze werden beoordeeld naar de leeftijd en het geslacht van de patiënt. Deze bevinding leek de opvatting te steunen dat behandeling met corticosteroiden in deze gevallen van nut zou kunnen zijn. Een nader meer uitgebreid onderzoek naar de bijnierfunctie tijdens ernstige infecties bij mensen leek daarom gewenst.

In de beginphase van dit onderzoek verschenen er echter in de literatuur reeds gegevens die vrijwel uitsloten dat althans tijdens de acute beginphase, zelfs bij toestanden van infectieus-toxische shock, er sprake was van een tekort schieten van de bijnierschors wat betreft de secretie van glucocorticoiden. Hierop zal nader in de literatuurbespreking (hoofdstuk 1)worden teruggekomen. Thans zij slechts vermeld dat zelfs bij toestanden van acute infectieuse shock in het grootste deel van de gevallen hoge en vrij zelden normale bloedspiegels werden gevonden van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden zonder dat er aanwijzingen waren dat deze hoge spiegels berustten op een vertraagde afbraak.

Enkele punten leken echter een nader onderzoek waard.

Ten eerste bleek uit deze gegevens niet of de hoogste waarden vooral in die periode van de dag werden gevonden waarbij in normale omstandigheden de bloedspiegel reeds de hoogste waarde vertoont. Het zou dan kunnen zijn dat de gevonden verhoogde bloedspiegel geen volledig

beeld gaf van het reactievermogen van de bijnierschors op de over de volle 24 uren door de infectie veroorzaakte belasting.

Ten tweede werd de biologische-halfwaarde tijd ($T\frac{1}{2}$) van het toegediend cortisol bij de patiënten (Melby en Spink, 1958) vergeleken met die bij normale contrôlepersonen. De spreiding van de $T\frac{1}{2}$ was in beide groepen groot, het vinden van verschillen, die voldoende significant waren, werd hierdoor bemoeilijkt. Het leek daarom wenselijk de $T\frac{1}{2}$ in de zieke phase met de $T\frac{1}{2}$ in de phase van herstel van eenzelfde patiënt te vergelijken, waardoor de invloed van mogelijke individuele verschillen in het metabolisme van de glucocorticoiden kon worden uitgeschakeld en de resultaten beter vergelijkbaar zouden worden.

Bovendien leek het nuttig na te gaan of na een ernstige belasting van de bijnier tijdens de acute phase in een later stadium van de infectie een vermindering in activiteit van de bijnierschors zou kunnen optreden.

Indien tijdens de ziekte of het herstel tekenen van verminderde bijnierschorsactiviteit zouden worden gevonden en de toestand van de patiënt dit zou toelaten, zou worden getracht enig inzicht te krijgen of hier van een werkelijke, primaire vermindering van de bijnierschorsfunctie sprake was dan wel een andere oorzaak voor de vermindering in de activiteit van de bijnier moest worden aangenomen

Bij dit onderzoek werden al die patiënten uitgesloten, die naast hun infectie een andere lichamelijke afwijking hadden, waarvan bekend was of verondersteld mocht worden dat deze een invloed kon uitoefenen op de productie of het metabolisme van de glucocorticoiden waardoor het effect van de infectie zelf vertroebeld zou kunnen worden. Zo werden onder andere zowel alle patiënten uitgesloten waarbij zich een ernstige infectie na een operatieve ingreep ontwikkelde, als patiënten die een functiestoornis van lever of nier hadden of lijdende waren aan een of andere chronische ziekte. Uiteraard werd hierdoor het aantal patiënten dat in het onderzoek kon worden opgenomen beperkt.

HOOFDSTUK 1

LITERATUURBESPREKING

Reeds lang is bekend dat ernstig verlopende infectieziekten gepaard kunnen gaan met uitgebreide anatomische afwijkingen van de bijnierschors. Zeer bekend zijn de door Waterhouse (1911) en later door Friderichsen (1918) beschreven patiëntjes met een dodelijk verlopende ziekte met koorts, symptomen van shock, huidbloedingen en - zoals bij obductie bleek - ook bijnierbloedingen. De oorzaak van de ziekte kon door Waterhouse en Friderichsen niet met zekerheid worden vastgesteld. Waterhouse zelf noemde reeds in zijn artikel meerdere auteurs (Voelcker, 1894, Still, 1898; Garrod en Drysdale, 1898; Batten, 1898; Andrewes, 1898; Talbot, 1900; Blaker en Bailey, 1901; Graham Little, 1901; Langmead, 1904; Dudgeon, 1904 - citaat Waterhouse, 1911) die vóór hem dergelijke patiënten hadden beschreven. In het merendeel van de gevallen, beschreven door de door Waterhouse en Friderichsen genoemde auteurs, konden uit het bloed, de liquor en de organen geen micro-organismen worden gekweekt. Slechts in enkele gevallen waren de bacteriologische bevindingen positief, met name werden in deze gevallen

positieve cultures vermeld met streptococci, staphylococci en gram-negatieve diplococci. In een enkel geval werden bij de obductie verschijnselen van een miliair tuberculose gevonden. De diagnose meningococcen sepsis wordt door Andrewes (1906) bij een kind met de typische verschijnselen reeds vermeld. Bamatter (1934) suggereerde op grond van eigen ervaringen en een kritisch onderzoek van de literatuur dat het syndroom van Waterhouse-Friderichsen vooral zou worden gevonden bij een meningococcen sepsis. Thans kan wel worden aangenomen dat allerlei gram-negatieve en gram-positieve micro-organismen dit beeld kunnen geven (Firor, 1937; overzicht van Weinberg en Mc Gavack, 1945; overzicht van Spink, 1960).

Een vroeger of later optredende verandering in vorm en functie van de bijnier bij infectie lijkt in de eerste plaats mogelijk wanneer de bijnier zelf de localisatie is van een haard van pathogene kiemen. Behalve door bacteriën (onder andere de tuberkelbacterie in de meeste gevallen van de ziekte (bijnierschorsinsufficiëntie) van Addison) kan de bijnier worden geïnvadeerd door spirochaeten, virussen, fungi en protozoën (Frenkel, 1961). Echter, ook zonder dat van een door pathogene micro-organismen toegebrachte directe laesie sprake is, kunnen, op grond van de literatuurgegevens, anatomische en functionele afwijkingen van de bijnier worden verwacht, n.l. als gevolg van de belasting die het menselijk organisme door

de infectie ondervindt. Grotendeels vallen deze binnen het "stress" principe dat door Selye in de literatuur is ingevoerd.

Deze onderzoeker heeft sinds 1936, op grond van eigen onderzoekingen en gegevens uit de literatuur, in een groot aantal publicaties (o. a. 1937, 1940, 1950) de opvatting verdedigd dat de aard van de verschijnselen die zich voordeden bij het menselijk of dierlijk organisme, indien dit werd blootgesteld aan schadelijke agentia van allerlei soort, een reactie was van het organisme op de inwerking van dit agens en niet een direct gevolg van de inwerking van het agens zelf. Deze reactie zou deels specifiek zijn voor het inwerkende agens, deels niet specifiek maar slechts het antwoord vormen op de belasting ("stress") die in deze toestand aan het organisme wordt opgelegd. Het totaal van alle niet specifieke reacties werd door Selye omschreven als het "Algemeen Adaptatie Syndroom". Het "adaptatie syndroom" doet zich dus niet steeds aan ons voor als een in alle opzichten constant syndroom omdat op de niet specifieke reacties de specifieke werkingen van de inwerkende "stressors" gesuperponeerd zijn.

Het algemeen adaptatie syndroom werd door Selye verdeeld in 3 phasen. In de kliniek is deze indeling echter weinig bruikbaar daar veelal niet is uit te maken wanneer de ene phase is geëindigd en de andere is begonnen.

Mede als gevolg van de aandacht die Selye heeft be-

steed aan de bijnier en het hypophyse-bijnierschorssysteem bij acute ernstige ziekten, zijn in de literatuur zeer veel gegevens over dit onderwerp verschenen. (o.a. Sarason, 1943; Rich, 1944; Sayers en Sayers, 1948; Sayers, 1950; Schaberg, 1951; Long, 1952; Symington e.a., 1955; Symington en Davidson, 1956; Symington e.a., 1956; Grant en Forrest, 1957; Holzbauer, 1957; Guillemin e.a., 1958; Holub e.a., 1959; Kitay e.a., 1959; Stachenko en Giroud, 1959). In het bijzonder zijn in dit verband van belang de beschreven morphologische en functionele veranderingen van de zona fasciculata en zona reticularis, daar waarschijnlijk in deze gebieden van de bijnierschors het bij de mens belangrijkste glucocorticoid, het cortisol wordt geproduceerd (Ayres e.a., 1956: Stachenko en Giroud, 1959 A, 1959 B).

Bijzondere aandacht verdienen de proeven van de groep Symington, Grant en medewerkers (1955, 1956, 1957). Zij onderzochten behalve bijnieren, verkregen bij obductie van patiënten met fulminant verlopende ziekten, ook bijnieren die chirurgisch waren verwijderd bij patienten met mammacarcinoom of prostaatcarcinoom. De adrenalectomie van deze patiënten was bilateraal en geschiedde in twee tempi met tussenpozen van ongeveer 3 weken. Een deel van de patiënten kreeg ACTH toegediend enkele dagen vóórdat de tweede bijnier werd verwijderd. Enige van de bij de eerste operatie verkregen bijnieren dienden als contrôle. Vooral uit deze proeven blijkt dat

de histologische, histochemische en chemische veranderingen die optreden na het inwerken van de acute "stress", niet goed te differentieren zijn van de veranderingen ontstaan na toedienen van ACTH.

De veranderingen die plaats vinden, worden bepaald door de intensiteit en duur van de acute "stress", respectievelijk de dosering van ACTH. De veranderingen betreffen vooral de cellen van de zona fasciculata en bestaan voornamelijk uit het verdwijnen van vacuolen, lipiden en cholesterol waardoor de cellen een compact aspect krijgen. Er is een toename van het gehalte aan zure en alkalische phosphatase, ribonucleinezuur en dehydrogenasen van de citroenzuurcyclus. De depletie van lipiden en het verdwijnen van de vacuolisatie treden bij de acute belasting haardsgewijs op (uitgebreider naarmate de "stress" ernstiger is), bij ACTH-stimulatie als een homogene strook in de zona fasciculata die zich bij toenemende doses kan uitbreiden van de kant van de zona reticularis naar de zijde van de zona glomerulosa. Bij sommige patiënten die langdurig blootgesteld zijn geweest aan schadelijke prikkels blijkt dat de strook van compacte cellen (arm aan lipiden en rijk aan RNZ en enzymen) zich niet aan de kant van de zona reticularis maar aan de zijde van de zona glomerulosa bevindt. Er is wel verondersteld dat deze toestand voorkomt in de phase waarin de bijnierschors zich herstelt van een periode van grote activiteit (Sarason, 1943). Bij klinisch fulminant

verlopende processen kunnen plaatselijk degeneratieverschijnselen van de cellen in de zona fasciculata en in de zona reticularis optreden met, in verder gevorderde stadia, cytolyse en tubulaire veranderingen van de fasciculi (Thomas, 1911-citaat Rich 1944; Rich, 1944; Selye, 1950; Schaberg, 1951). Het gehalte aan RNZ en enzymen van de cellen die de tubuli begrenzen kan wisselen van nihil tot zeer hoog. Tenslotte kunnen gebieden van totale necrose ontstaan. Een duidelijke correlatie tussen de beschreven histologische en histochemische veranderingen en de klinische verschijnselen is echter niet door iedere onderzoeker gevonden .(Ferguson en Chapman, 1948). In hoever ACTH ook een rol speelt bij de vasculaire veranderingen (bloeding, infarcering),die het belangrijkste kenmerk zouden zijn bij het syndroom van Waterhouse-Friderichsen,is ter discussie (Rich, 1944; Ferguson en Chapman, 1948; Schaberg, 1951; Tonutti, 1953-citaat Skelton 1961; Margaretten en Mc Adams, 1958).

Uit de experimenten van de groep van Symington (1956) bleek dat boven genoemde histologische en histochemische veranderingen van de bijnierschors correleerden met een toegenomen secretie van cortisol en corticosteron. Deze onderzoekingen - gebaseerd op bepalingen van steroiden in bloed van de bijniervene en in urine - betroffen patiënten die ACTH kregen toegediend. De patiënten hadden echter allen een carcinoom en waren bovendien onderworpen aan de belasting van een operatie.

Zowel het basis lijden als de ACTH toediening en de operatie vormden dus vele factoren die het effect van elke factor afzonderlijk zouden hebben kunnen vertroebeld. Ook over de bijnierschors functie in de acute phase van een ernstige ziekte bij patiënten, die echter tevoren gezond waren geweest, zijn reeds veel gegevens bekend geworden. Veelal werd bij het onderzoek gebruik gemaakt van de bepalingen van steroiden in urine of bloed.

Zo rapporteerden onder andere Forbes e.a. (1947), Kinnunen (1951), Birke (1954) en Zimmermann(1956) een verhoogde 17-keto-steroiden* uitscheiding in de acute phase van koortsende (waaronder infectie-) ziekten, na traumata en na chirurgische ingrepen. De verhoogde 17-keto-steroiden excretie werd niet of in mindere mate gevonden wanneer deze reeds laag was vóór het inwerken van de "stress". De 17-keto-steroiden excretie kan inderdaad een indruk geven van de bijnierschorsfunctie, mits aandoeningen van de gonaden zijn uit te sluiten. De slechte correlatie tussen de 17-keto-steroiden uitscheiding en de werkelijke cortisolproductie (bepaald met behulp van met C^{14} gemerkte steroiden) maakt de beoorde-

* Hoewel chemici thans het praefix oxo- in plaats van het praefix keto- gebruiken, blijft in dit proefschrift de naam 17-keto-steroiden gehandhaafd om redenen die in hoofdstuk II worden aangegeven.

ling van de bijnierschorsfunctie alleen aan de hand van de 17-keto-steroiden excretie echter weinig exact (Cope en Black, 1959). Op de grote spreiding van de waarden die als normaal kunnen worden beschouwd, waardoor een incidentele waarde moeilijk is te beoordelen, wordt later teruggekomen. Bij enkele patiënten van bovengenoemde onderzoekers waren echter enkele vóórwaarden bekend. In deze gevallen kon uiteraard met meer zekerheid over een stijging van de 17-keto-steroiden uitscheiding worden gesproken indien inderdaad plotseling hogere waarden werden gevonden zodra de "stress" begon in te werken. Hierbij zij aangetekend dat Zimmermann (1956, 1963) kort vóór het duidelijk worden van de klinische symptomen vaak een daling waarnam van de 17-keto-steroiden uitscheiding. Hij meende op grond hiervan een verband te moeten aannemen tussen de daling van de 17-keto-steroiden excretie en een vermindering van de resistentie ten opzichte van infecties. Bij het merendeel van ook zijn patiënten waren echter de waarden, gevonden tijdens de acute phase van de ziekte, niet alleen hoger dan de waarden gevonden kort voor het optreden van de klinische symptomen, maar ook hoger dan die gevonden geruime tijd voor het uitbreken van de ziekte.

De uitscheiding van 17-ketogene steroiden correleert veel beter met de werkelijke cortisolproductie (Cope en Black, 1959). Birke e. a. (1957) vonden ook wat betreft

de uitscheiding van de 17-ketogene steroiden, verhoogde waarden bij patiënten met brandwonden, vooral indien het beloop werd gecompliceerd door bijvoorbeeld infectie van de wond of pneumonie.

Het verzamelen van 24 uurs urine voor de bepaling van steroiden is juist bij zeer zieke patiënten een groot probleem. Vele onderzoekers hebben om deze redenen dan ook van steroidenbepalingen in bloed gebruik gemaakt voor het verkrijgen van gegevens over de functie van de bijnierschors. Zo vonden Nelson e. a. (1951) en Perkoff e. a. (1954) bij acute ernstige ziekten een verhoogde plasma 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden spiegel. Sandberg e. a. (1956) onderzochten patienten met verschillende aandoeningen (waaronder echter geen infectieziekten) in agonale toestand. De plasma cortisol spiegel*, bepaald op verschillende tijdstippen van de dag, bleek bij deze patiënten verhoogd. In de meeste gevallen waren de bijnieren nog door ACTH toediening te stimuleren. De halfwaarde-tijd van toegediend 4-C^{14}-cortisol bleek bij deze patienten in agonale toestand echter verlengd, zodat de hoge plasma cortisol spiegel - in ieder geval voor een deel - moet hebben berust op een vertraagd metabolisme.

* In werkelijkheid werd de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden bepaald met de Porter-Silber reactie. Bij een aantal van deze patiënten werd echter tevens een papierchromatografische scheiding van de steroiden in het plasma uitgevoerd. Het enige 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroid dat met deze techniek werd gevonden was cortisol.

De voor onze vraagstelling meest belangwekkende gegevens hebben opgeleverd de proeven van Melby en Spink (1958) en het onderzoek dat plaats vond in meerdere - in dit opzicht samenwerkende - ziekenhuizen in de Verenigde Staten van Amerika (Bennett, e. a., 1962). Bij patiënten in infectieus toxische shock (systolische bloeddruk 40 tot 85 à 90 mm Hg) vonden Melby en Spink een duidelijk verhoogde concentratie van cortisol - gemeten naar de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden - in het plasma. Ook de groep van Bennett e. a. vond in het merendeel van de gevallen een verhoogde 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden spiegel in het bloed. Niettemin hadden meerdere patiënten spiegels die nog als normaal konden worden beschouwd. Een verband tussen de hoogte van de bloedspiegel en het beloop van de ziekte bleek niet aanwezig te zijn. Voorzover door Melby en Spink nagegaan, was de reactie op exogeen ACTH bij de patiënten gelijk aan die van gezonden contrôle personen. De halfwaarde-tijd van exogeen cortisol (in de pharmacologische dosis van 100 mg) was bij de patiënten die tenslotte stierven verlengd; bij de patiënten die uiteindelijk herstelden verschilden de uitkomsten echter niet significant van die verkregen bij de contrôle personen. De in het plasma gevonden hoge steroid spiegel kon dus - althans bij de overlevenden - niet meer worden gezien als gevolg van een vertraagde afbraak. Geen van bovengenoemde onderzoekers vermeldde op welk tijdstip van de dag de

verschillende bloedmonsters werden afgenomen. Uit hun gegevens is dus niet op te maken of een eventueel dag-rhythme van invloed is geweest op de hoogte van de bloedspiegel die werd gevonden.

Hoewel het op grond van deze waarnemingen niet aannemelijk is dat fulminant verlopende infectieuze processen gepaard zullen gaan met een absoluut verminderde functie van de bijnierschors, zou het niettemin mogelijk zijn dat in deze gevallen de maximale secretie van corticosteroiden inadaequaat is om de "stress" op te vangen (Spink, 1960). Met andere woorden, de hoeveelheid gesecerneerd bijnierschorshormoon zou bepalend kunnen zijn voor het al dan niet gunstig verlopen van dergelijke ernstige processen. Een bewezen gunstig effect van therapie met bijnierschorshormonen bij mensen of dieren, onderworpen aan de "stress" van een ernstige (infectie) ziekte en met vóór de ziekte normale functie van de bijnier, zou de juistheid van de laatste veronderstelling aantonen.

De beschermende werking van corticosteroiden bij acute ernstige "stress" is nagegaan in vele dierproeven. De uitkomsten bij de verschillende auteurs zijn zeer wisselend. Selye e.a. (1940) bijvoorbeeld zagen een gunstig effect van toediening van corticosteroiden bij ratten met intacte bijnieren blootgesteld aan ernstig trauma. Ingle (1943) daarentegen kwam tot een tegengesteld oordeel. Borden (1953) zag bij honden, althans wat betreft de vasculaire shock na intraveneuze injectie van meningococcen

toxine, geen gunstig resultaat van tevoren toegediend cortison (10 mg per kg lich. gewicht). De proeven van Melby e. a. (1959) bieden echter wel aanwijzingen, dat de hoogte van de cortisol concentratie in het plasma toch van belang is voor het beschermend effect van cortisol ten aanzien van de beschadiging van de weefsels als gevolg van toediening van endotoxine. De ze onderzoekers namen als maat voor de ernst van de weefselbeschadiging de hoogte van de serum glutaminezuur oxaalazijnzuur transaminase (S. G. O. T.)spiegel. Na intraveneuze toediening van endotoxine van E. coli bij honden was er een significante toename van het S. G. O. T. gehalte en tevens van het cortisol gehalte in het plasma. Indien echter tegelijk met het endotoxine, cortisol in grote dosis (300 mg in totaal intraveneus) werd gegeven, was er slechts een geringe stijging van het S. G. O. T. gehalte. Bovendien overleefden meer honden de toediening van het endotoxine, hoewel ten aanzien van deze laatste bevindingen moet worden gezegd dat het aantal proefdieren te gering was om statistische berekeningen toe te passen.

Niet alle experimenten zijn goed vergelijkbaar wat betreft de graad en duur van de teweeggebrachte "stress" en de dosis en soort van de toegediende corticosteroiden. Bovendien moet men onder meer bedenken dat bij (dier) proeven (ook bij dieren van dezelfde soort) factoren als het tijdstip van de toediening en het gewicht (de leeftijd) van de dieren van invloed zijn op de resultaten. Indien

bijvoorbeeld cortison (0,5 mg) aan muizen werd toegediend vóór of uiterlijk één uur na de injectie van Brucella endotoxine (bereid van "smooth" cultures van Brucella organismen) was het beschermend effect duidelijk aantoonbaar. Geen bescherming werd echter verkregen indien de toediening van cortison werd uitgesteld tot 6 uren na de intraveneuze injectie van het endotoxine. (Spink en Anderson, 1954). De hoogte van de bloedspiegel op het moment van of kort na de toediening van het endotoxine lijkt dus essentieel voor het beschermend effect van bijnierschorshormonen. Thomas e.a. (1952, 1954, 1955) vonden dat cortison (5 of 10 mg), gegeven vóór de injectie van endotoxine bij grotere konijnen (2 - 4 kg), het optreden van shock en het intreden van de dood kon voorkomen, maar bij kleinere konijnen (0,5 -1,0 kg) tot gevolg had dat zich vaker een bilaterale nierschors necrose ontwikkelde dan bij de contrôle dieren van hetzelfde gewicht. Waarschijnlijk houdt de verschillende reactie van grote en kleine konijnen op toediening van cortison verband met het feit dat grote volwassen konijnen zeer kwetsbaar zijn voor het endotoxine, terwijl kleine - nog jonge - konijnen zeer resistent hiervoor zijn.

Wat betreft de behandeling van patiënten met infectieus-toxische processen, bij wie tevoren de bijnierschorsfunctie normaal was, werd in een overzicht van de literatuur door Kass en Finland (1957) gewezen op de verdeeldheid die heerst onder de verschillende onder-

zoekers over de werkelijke voordelen van het gebruik van corticosteroiden boven dat van andere middelen bij ernstige infecties. Zo vond Tobin (1956) die in 4 jaren 63 patiënten behandelde met sulfonamiden, penicilline en eventueel adrenaline, dat toediening van hoge doses cortison bij een bepaald aantal van deze patiënten, weinig effect sorteerde. Hij gaf echter de cortison meestal intramusculair of per os, slechts enkele patiënten kregen een cortisonpreparaat intraveneus. Jahn e.a (1954) daarentegen concludeerden dat ACTH en cortison toediening naast behandeling met antibiotica wel is aangewezen bij patienten met ernstige infecties. Ook Spink (1960) meende, op grond van een ervaring met eveneens een groot aantal patienten (waaronder 38 patiënten met perifere vasculaire collaps ten gevolge van een ernstige bacteriële infectie) dat grote hoeveelheden corticosteroiden (aequivalent van 500 tot 1000 mg cortisol intraveneus gedurende de eerste 24 uur) kunnen bijdragen tot een gunstige wending in het beloop van fulminante bacteriële infecties met shock. Het meest definitieve oordeel lijkt echter gegeven te worden door het dubbelblind onderzoek dat in meerdere Amerikaanse ziekenhuizen is verricht naar het effect van de behandeling met cortisol bij ernstige infecties (Bennett e.a., 1962). De zeer ernstige patiënten die op de dag van opneming reeds overleden, werden niet in de statistische bewerking opgenomen. De dosering van de cortisol was 300 mg intraveneus de

eerste dag van opneming, vervolgens elke dag 50 mg minder (vanaf de 3e dag per os). De mortaliteit van de 80 patiënten die cortisol kregen, bleek niet significant te verschillen met de mortaliteit in de placebogroep (89 patienten).

Er zijn dus geen gegevens dat bij patiënten, waarbij voordien een normale bijnierfunctie mag worden aangenomen, in de acute phase van ernstige ziekten - waaronder infectie-ziekten - de mate van secretie van glucocorticoiden bepalend is voor het beloop. Daarentegen zijn er wel aanwijzingen dat na een periode van verhoogde activiteit van de bijnierschors de functie - gemeten naar de excretie van metabolieten van bijnierschors hormonen - gedurende enige tijd is verminderd.

Uit de reeds eerder genoemde onderzoekingen van Forbes e.a. (1947), Kinnunen (1951) en Zimmermann (1956) bleek de stijging van de 17-keto-steroiden excretie tijdens de "stress" na enige dagen gevolgd te worden door een daling. Forbes e.a. vonden in deze periode ook waarden die konden liggen beneden de laagste waarden gevonden in een groep normale contrôle-personen. In de phase waarin de patiënten zich herstelden steeg de excretie weer zodat na meestal enige dagen tot - in enkele gevallen-- hoogstens een paar weken het niveau van de excretie van vóór de ziekte, de operatie of het trauma - voor zover dit niveau althans bekend was - was bereikt. Onder de patiënten die op deze wijze uitvoerig vóór,

tijdens en na hun ziekte konden worden nagegaan, waren slechts enkele met een acute ernstige infectie. Gegevens omtrent de 17-keto-steroiden excretie langere tijd vóór het uitbreken van de ziekte en geruime tijd na het intreden van het herstel zijn in deze onderzoekingen niet vermeld. Mickerson (1959) vond bij patiënten met influenza - A na de acute phase een lage 17-keto-steroiden en corticoiden excretie. De uitscheiding van steroiden steeg duidelijk na toediening van ACTH. Hij meende daarom dat bij deze patiënten sprake was van bijnierschors-insufficientie tengevolge van verminderde activiteit van de hypophysis Het betrof hier echter patiënten die tevoren niet geheel gezond waren. Birke e. a. (1957) vonden ook bij de uitscheiding van 17-keto-steroiden na de aanvankelijke stijging een duidelijke daling. Meer dan enkele dagen werd het beloop echter niet vervolgd. Franksson en Gemzell (1954) zagen bij patiënten - met verschillende ontstekingen en carcinomen als basislijden - tijdens of na chirurgische ingrepen eveneens een sterke stijging van de 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden spiegel in het bloed (de hoogste spiegel werd meestal de 1^{e} of 2^{e} postoperatieve dag gevonden) gevolgd door een daling tot na 6 à 14 dagen een normale waarde werd bereikt. De 17-keto-steroiden excretie correleerde met de 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden spiegel in het bloed, de veranderingen kwamen echter wat later en waren veel minder uitgesproken. Bij een andere groep patiënten met benigne en

maligne tumoren, ontstekingen en traumatische laesies, bij wie het postoperatieve beloop ongestoord was, vonden Franksson e. a. (1954) eveneens de aanvankelijke stijging van de steroiden concentratie in het bloed, welke stijging anderhalve dag duurde. In tegenstelling tot de eerst genoemde groep trad daarna echter een daling tot subnormale waarden op. Het abnormaal lage niveau bleef ongeveer een dag gehandhaafd. Vervolgens werd weer een stijging gevonden die echter veel minder uitgesproken was dan de eerste stijging en twee dagen duurde. Hierna daalde het peil weer tot prae-operatieve waarden.

Men kan zich afvragen of in de periode na de acute phase, waarin een subnormale bijnierschors activiteit werd gevonden, sprake was van een inadaequate bijnier functie. Hiertegen pleit dat deze periode samenviel met tekenen van beginnend herstel. In de literatuur voor zover nagegaan, ontbreken echter gegevens over de bijnierschorsfunctie geruime tijd na het herstel van de ziekte. Het is juist in deze periode dat patiënten, die zijn genezen van een ernstige infectieziekte, nog geruime tijd klagen over malaise gevoelens en een beeld vertonen dat wel is aangeduid als postinfectieuze asthenie.

HOOFDSTUK II

METHODEN VAN ONDERZOEK

A. Inleiding.

In dit onderzoek zijn de volgende steroiden bepaald:

1. De steroiden in het bloed die een 17,21-dihydroxy-20-oxo-groep gemeenschappelijk hebben.
2. De steroiden in de urine met een 17-oxo-groep, de 17-oxo-steroiden.
3. De steroiden in de urine met een 17-hydroxy-groep, de totale 17-hydroxy-steroiden, zoals die bepaald worden met de methode van Norymberski en Appleby.

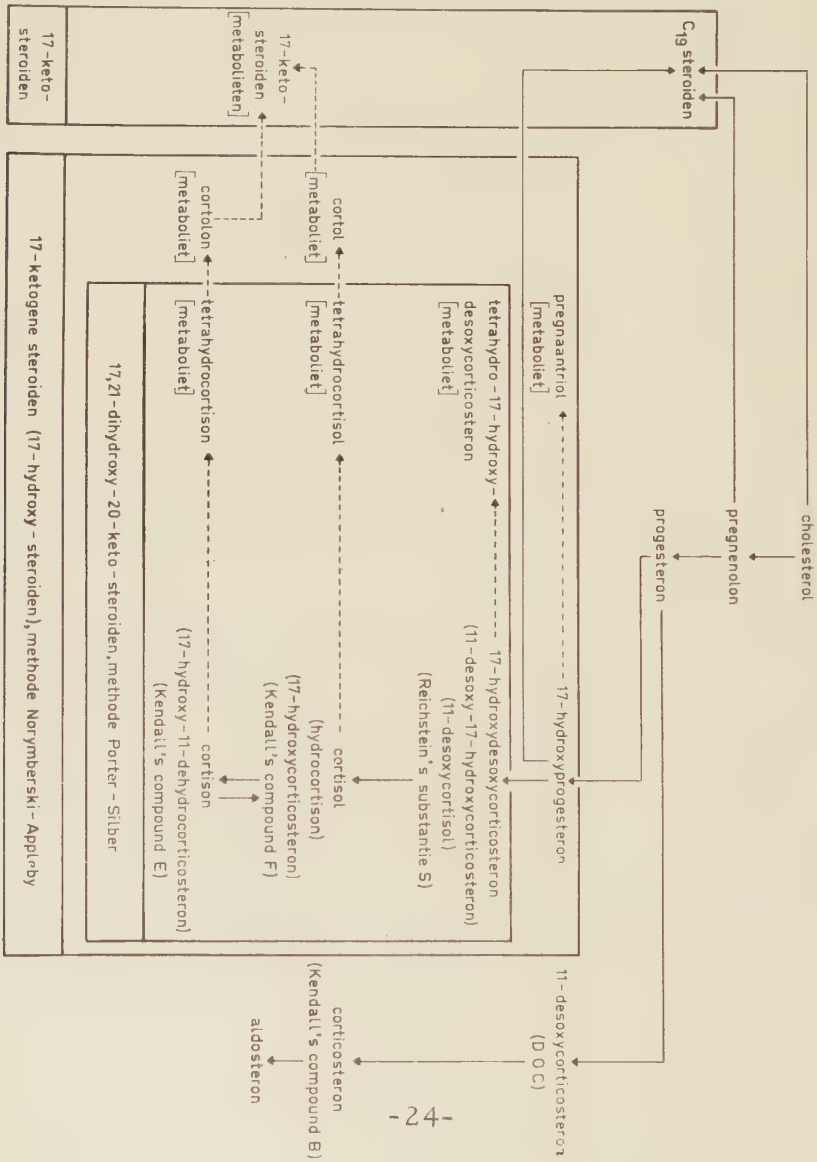
Ten onrechte wordt de eerste groep in de literatuur ook wel met de naam 17-hydroxy-steroiden aangeduid, hetgeen tot verwarring met de derde groep aanleiding kan geven.

De carbonylgroep C=O wordt door chemici aangegeven door het praefix oxo-, niet meer door het praefix keto-. In de kliniek is het praefix keto- echter nog steeds gehandhaafd, zodat het nog gebruikelijk is te spreken van bijvoorbeeld 17-keto-steroiden (17 ks), niet van 17-oxo-steroiden. In verband hiermee zal verder in dit proefschrift het praefix keto- inplaats van oxo- in alle vormen gehandhaafd blijven.

De totale 17-hydroxy-steroiden omvatten alle steroiden die gekenmerkt worden door een hydroxylgroep aan C17. Aanvankelijk werden met de methode van Norymberski de steroiden bepaald met een 17, 21-dihydroxy-20-keto-groep, 17, 20, 21-trihydroxy-groep en een 21-desoxy-17, 20-dihydroxy-groep. Daar deze steroiden met Na-bismuthaat werden geoxydeerd tot 17-keto-steroiden en vervolgens met het Zimmermann reagens werden bepaald, was men gewoon deze groep aan te duiden met de naam 17-ketogene steroiden. Sinds echter de modificatie van Appleby werd toegepast waarbij de 21-desoxy-20-keto-17-hydroxy-steroiden (die niet door Na-bismuthaat worden geoxydeerd tot 17-keto-steroiden) eerst met borohydride worden gereduceerd tot 21-desoxy-17, 20-dihydroxy-steroiden en daarna worden geoxydeerd, zijn alle 17-hydroxy-steroiden op deze wijze te bepalen, Hoewel met deze methode een groter aantal 17-hydroxy-steroiden worden bepaald dan die welke oorspronkelijk met de naam 17-ketogene steroiden werden aangeduid, is in de kliniek de aanduiding 17-ketogene steroiden toch gehandhaafd voor de totale groep van 17-hydroxy-steroiden, bepaald volgens de modificatie van Appleby.

Onderstaand schema is samengesteld uit de bekende schemata van Hechter en Pincus (1954), , Dorfman (1958) en Mulrow en Cohn (1959). Het geeft aan hoe men zich de stadia van de biosynthese van bijnierschors-hormonen kan voorstellen. In het schema is te zien van welke inter-

mediaire producten, eindproducten en afbraakproducten in de synthese van glucocorticoiden de drie bovengenoemde groepen steroiden afkomstig zijn. Enkele vaak gebruikte synoniemen zijn tussen haakjes geplaatst. De stereoisomerie die op vele plaatsen mogelijk is, wordt kortheidshalve in het schema niet aangegeven



B. Verzamelen van urine.

De urine werd verzameld gedurende perioden van precies 24 uur. Hiervoor moesten in de periode, waarin de patiënt nog ziek was, speciale maatregelen worden genomen. De creatinine-uitscheiding immers bleek in overeenstemming met gegevens uit de literatuur (o.a. Krehl, 1914, Houssay, 1950) ook in ons materiaal bij koorts verhoogd, maar op onregelmatige wijze, zodat bepaling van de creatinine-uitscheiding geen contrôle vormde op de nauwkeurigheid waarmee de 24 uurs urine was verzameld. De patiënten werden daarom geïsoleerd verpleegd. Alle urine werd verzameld in een pot in de onmiddellijke nabijheid van de patiënt. De urine mocht door niemand worden verwijderd behalve door een van de twee hiervoor aangewezen personen. Monsters van de 24 uurs urine voor ander onderzoek werden slechts afgegeven nadat de 24 uurs urine was gemeten en goed was gemengd. Regelmatig werd gecontroleerd of de patient incontinent was geweest. Nadat de temperatuur was gedaald tot normaal werd wel van de creatinine-excretie gebruik gemaakt om na te gaan of de urine inderdaad gedurende 24 uur was verzameld.

In het algemeen werd geen conserveringsmiddel gebruikt, slechts in enkele gevallen (nog niet behandelde patienten verdacht van salmonellose) werd een weinig phenol aan de urine toegevoegd.

De urine werd of direct in bewerking genomen, of gedurende uiterlijk 1 maand op kamertemperatuur bewaard of gedurende maximaal 4 maanden ingevroren bij -15° C.

C. Quantitatieve bepaling van vrije 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in plasma.

De bepaling berust op de kleurreactie van Porter en Silber (1950, 1954) van phenylhydrazine in zwavelzuur met de 17, 21-dihydroxy-20-keto-groep. In verband hiermee zullen in dit proefschrift deze steroiden ook wel worden aangeduid met de naam Porter-Silber chromogenen. Meer dan 90% van de vrije cortico-steroiden die deze kleurreactie geven bestaat bij normale personen uit cortisol (Peterson e. a., 1955).* Peterson e. a., (1957) modificeerden de oorspronkelijke procedure van Porter

*Sandberg e. a. (1956) vonden met behulp van papierchromatografische technieken dat de hoge bloedspiegel van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden bij patiënten in agonale toestand (hoewel niet op basis van een infectieus proces) wel moest berusten op een hoge bloedspiegel van cortisol. Bij twee patiënten werd met hulp van de heer D. v. d. Sijde (Biochemisch Laboratorium (Dr J. de Flines) van de Koninklijke Nederlandse Gist- en Spiritus Fabriek) eveneens papierchromatografische scheiding - zij het slechts in één systeem (tolueen /70% methanol) - van een extract van plasma verricht. Een alpha-ketol-zijketen kon slechts bij die steroiden worden aangetoond die dezelfde Rf-waarde hadden als het referentie-steroid cortisol.

en Silber. Door ons werd in grote lijnen een variant gevolgd van de methode van Peterson e.a. (1957), zoals deze door Chung Wu en Mason (1958) is beschreven. De bepaling werd als volgt uitgevoerd.

Reagentia.

a. Methyleen chloride wordt gezuiverd volgens v.d. Vies(1957). Een liter van deze gezuiverde CH_2Cl_2 wordt geredestilleerd met 1 g 2,4-dinitrophenylhydrazine en 1 druppel geconcentreerd H_2SO_4 (p.a.).

b. 0.1 N NaOH (niet gesteld).

c. Zwavelzuur. Zeven delen geconcentreerd H_2SO_4 (p.a.) worden gemengd met drie delen gedestilleerd H_2O.

d. Methanol. Een liter wordt geredestilleerd met 1 g 2,4-dinitrophenylhydrazine en 1 druppel geconcentreerd H_2SO_4 (p.a.).

e. Phenylhydrazine chloride (Eastman Kodak Company, New York) wordt gezuiverd door de stof viermaal te rekristalliseren uit aethanol waaraan een weinig geconcentreerd HCl (p.a.) is toegevoegd. Bij de laatste rekristallisatie wordt - alvorens de phenylhydrazine uit te laten kristalliseren - de hete oplossing gefiltreerd door een glasfilter. De gezuiverde HCl-phenylhydrazine wordt gedroogd in een vacuum exsiccator en in een bruin flesje op -4°C be-

waard.

f. Cortisol standaard. Een oplossing van cortisol in gezuiverde methanol 70% wordt gemaakt in de concentratie van 1 mg/ml. Een ml van deze oplossing wordt met water verdund tot 100ml (10 γ /ml). De standaardoplossing wordt op -4°C bewaard.

g. Phenylhydrazine reagens. Tien mg gezuiverde HCl-phenylhydrazine wordt opgelost in 10 ml van het blanco reagens (h). De oplossing mag slechts één dag worden bewaard.

h. Blanco reagens. Dit is een mengsel van 2 delen (c) en 1 deel (d). Dit mengsel kan lang worden bewaard.

Werkwijze.

Tien ml geheparíniseerd plasma, dat binnen 2 uren na de venepunctie is gescheiden van de cellen (Brown e. a., 1954), wordt gepipetteerd in grote centrifuge-buizen van 60 cc met ingeslepen glazen stop. Vervolgens wordt 35 ml CH_2Cl_2 bijgevoegd. De buis, afgesloten met de glazen stop, wordt nu 10 minuten voorzichtig mechanisch geschud en vervolgens, nadat de stop is verwijderd, gecentrifugeerd. Men zuigt het plasma af en voegt aan het achterblijvende extract in dezelfde buis 2 ml 0,1 N NaOH toe. Hierna wordt gedurende 30 seconden fors met de hand geschud en wederom kort gecentrifugeerd. De NaOH

zuigt men af. Vervolgens wordt in een kleine centrifugebuis van 20 cc met ingeslepen stop A en een zelfde soort buis B 15 ml van het extract gepipetteerd. In buis A wordt 0,3 ml van het reagens (g) en in buis B wordt 0,3 ml van het blanco reagens gepipetteerd. De buizen worden krachtig met de hand geschud en daarna gecentrifugeerd. De nu bovenliggende CH_2Cl_2 laag zuigt men af. Een blanco (10 ml H_2O) en een standaard (10 ml H_2O met 2 γ cortisol) ondergaan dezelfde bewerking. De buizen worden dan gedurende 30 minuten in een waterbad met een temperatuur van 60°C geplaatst.

Vervolgens wordt de inhoud van elke buis met een Pasteurse pipet overgebracht in een cuvette (2,5 x 0,3 cm met een lichtweg van 1 cm). De kleurintensiteit wordt gemeten in een Unicam SP 500 bij 410 m μ. Door middel van een voetstukje onder de cuvetten en een diafragma met lensje vóór de cuvettenhouder (v. d. Vies, 1959) wordt bereikt dat de lichtbundel door het eindvolume in de cuvetten gaat.

Berekening

A-buizen met HCl-phenylhydrazine reagens.	B-buizen met blanco reagens.
A_1 water	B_1 water (= blanco)
A_2 standaard	B_2 standaard
A_3 plasma	B_3 plasma

De correctie van de extinctie van de standaard geschiedt als volgt: extinctie standaard = $A_2-(A_1 + B_2)$.
De correctie van de extinctie van het plasma geschiedt op de zelfde wijze: extinctie plasma = $A_3-(A_1 + B_3)$.

$$\frac{\text{Gecorrigeerde extinctie plasma}}{\text{Gecorrigeerde extinctie standaard}} \times 2x10 = \text{aantal } \gamma/100 \text{ ml plasma.}$$

Commentaar

De standaardafwijking van het gemiddelde, berekend op basis van de uitkomsten van 13 duplobepalingen (waarden variërend van 0,4 γ % - 40,4 γ %), bedroeg 1,07 γ %. Indien de bepaling niet dezelfde dag kon geschieden werden de plasmamonsters ingevroren bij -15°C en uiterlijk binnen vier maanden in bewerking genomen. Teneinde na te gaan of deze wijze van bewaren van invloed was geweest op de gevonden waarden, werd van 11 plasmamonsters de helft bewerkt direct na de venepunctie, de helft na vier maanden bewaren bij -15°C. Het bleek dat geen significant systematisch verschil tussen de twee groepen kon worden aangetoond.
Peterson e.a. (1957) gaven als normale waarden op 6-25 γ % (gemiddeld 15 γ %, standaard deviatie 4,5 γ %).

Wij vonden bij 11 normale personen (mannen en vrouwen, in leeftijd variërend van 17 - 40 jaar) een gemiddelde waarde van 12,2 γ % en een standaard deviatie van 2,3 γ %. Indien wordt verondersteld dat de sprei-

dingen in het grote materiaal van Peterson en in het kleinere van ons gelijk zijn (met $\alpha = 0,05$ moet deze hypothese wel, met $\alpha = 0,01$ moet deze hypothese niet worden verworpen), blijken de gemiddelden in deze groepen niet significant van elkaar te verschillen en wordt het dus niet waarschijnlijk dat onze normale waarden systematisch hoger of lager liggen dan die van Peterson e.a. (1957)

D. Quantitatieve bepaling van 17-keto-steroiden (17 ks) in 24 uurs urine.

Slechts een klein deel, circa 10% van een toegediende tracerdosis van 4-C^{14}-cortisol, verschijnt in deze vorm in de urine (Gallagher, 1958). De belangrijkste bron van de steroiden die als 17-keto-steroiden in de urine worden bepaald zijn echter C_{19} steroiden uit de bijnierschors en testosteron.

Voor onze bepaling volgden wij de methode die is voorgesteld door de "M.R.C. Committee on clinical Endocrinology" (1951). Deze berust op hydrolyse van de in water oplosbare conjugaten van de 17-keto-steroiden extractie uit de waterige phase met tetrachloorkoolstof, zuivering van het extract met NaOH en toepassing van de Zimmermann kleurreactie met m-dinitrobenzeen. Het colorimetrisch bepalen van de kleurintensiteit geschiedde op een Unicam S.P 500 spectrophotometer bij een golflengte van 420 en 540 mμ. Er werd uitgegaan van 100 m.

urine en een standaard van 25 mg dehydro-iso-androsteron in 100 ml alcohol.

Berekening.

$$\frac{(\text{ext. bep. bij } 540\ m\mu - 0,6 \times \text{ext. bep. bij } 420\ m\mu)}{(\text{ext. stand. bij } 540\ m\mu - 0,6 \times \text{ext. bep. bij } 420\ m\mu)} \times \frac{4}{0,2} \times \frac{50}{1000}\ \text{mg} \times \frac{\text{aantal ml urine van 24 uur}}{100\ \text{ml}} =$$

aantal mg 17 ks in 24 uurs urine.

Commentaar.

Als regel werd niet de hele procedure in duplo gedaan, slechts de colorimetrische bepaling werd in duplo verricht. De standaardafwijking van het gemiddelde van deze bewerking in duplo bedroeg voor een hoeveelheid van 1-5 mg 17 ks in 24 uurs urine 6,2% (n = 87); van 5-10 mg 17 ks in 24 uurs urine 3,0% (n = 48) en voor 10 mg of meer 17 ks in 24 uurs urine 4,0% (n = 52).

Bij 13 urine monsters was na bewaren gedurende 1 maand op kamertemperatuur het 17 ks gehalte niet significant gedaald of gestegen. Evenmin was dit het geval bij 12 urine monsters die 1, 2 en 3 maanden en bij 10 monsters die 4 maanden in bevroren toestand werden bewaard. Deze bevinding sluit uiteraard niet uit dat toch qualitatieve veranderingen van 17 ks in dergelijke perioden van bewaren optreden. Plantin en Birke (1954) vonden

dat het bewaren van urine gedurende 2 maanden op kamertemperatuur wel, het bewaren tot minstens 5 maanden bij 5°C geen qualitatieve veranderingen tot gevolg had. Ons doel was echter slechts na te gaan welke quantitatieve veranderingen gedurende het ziekteverloop konden worden aangetoond.

Het is in de kliniek vaak gebruikelijk de diagrammen voor respectievelijk vrouwen en mannen van Hamburger (1948) te gebruiken ter beoordeling of een bij een patient gevonden waarde voor de 17 ks uitscheiding normaal, te hoog of te laag is te achten. De hiervoor gebruikte grafische weergave geeft echter slechts de lijnen weer waar binnen 97-98 % van de door hem gevonden waarden bij normalen liggen, maar niet de standaardafwijking zoals deze voor elke leeftijdsgroep bepaald kan worden. Wij hebben deze daarom uit de gegevens van Hamburger berekend (tabel I).

Tabel I

Normale 17-keto-steroiden excretie per 24 uur
(berekend uit gegevens van Hamburger, 1948).

Mannen					Vrouwen				
Jaarklassen	Steekproefomvang	Gem. (mg)	Stand. afw. v/h gem. (mg)	95% betrouwb. interval indiv.-waarden (mg)	Jaarklassen	Steekproefomvang	Gem. (mg)	Stand. afw. v/h gem. (mg)	95% betrouwb. interval indiv.-waarden (mg)
15 t/m 19	7	10,4	4,6	< 0-21,6	15 t/m 19	8	6,2	2,1	1,2-11,2
20 " 24	8	15,8	5,2	3,7-27,9	20 " 24	8	9,7	3,8	0,7-18,7
25 " 29	18	14,8	3,8	7,0-22,6	25 " 29	12	10,1	3,2	3,1-17,1
30 " 34	9	13,0	4,0	3,8-22,2	30 " 34	5	4,8	1,6	0,4-9,2
35 " 39	12	13,0	5,1	1,8-24,2	35 " 39	7	6,1	1,5	2,4- 9,8
40 " 44	8	11,2	3,0	4,1-18,3	40 " 44	10	5,8	1,6	2,2- 9,4
45 " 49	7	11,6	1,8	7,2-16,0	45 " 49	7	5,9	2,7	< 0-12,5
50 " 54	9	10,2	4,6	< 0-20,8	50 " 54	9	6,1	2,1	1,3-10,9
55 " 59	6	8,9	3,3	0,7-17,1	55 " 59				

Uit de tabel volgt dat de spreiding van de normale waarden voor de verschillende leeftijdsgroepen groot is. De uitkomsten van incidentele bepalingen zijn dus moeilijk te beoordelen.

E. Quantitatieve bepaling van 17-ketogene-steroiden (17 kgs) in 24 uurs urine.

Hoewel de individuele variatie betrekkelijk groot is kan men voor de praktijk rekenen dat ongeveer 50% van cortisol in deze vorm in de urine verschijnt (Gallagher, 1958; Fukushima, 1960).

De door Diczfalusy e.a. (1955) en Birke e.a. (1958) gemodificeerde methode van Norymberski e.a. (1952, 1953) werd - afgezien van enkele details - geheel door ons gevolgd. Deze methode berust op de volgende principes:

1. De door Appleby e.a. (1955) ingevoerde reductie met natrium-borohydride van alle carbonylgroepen tot hydroxylgroepen. De oorspronkelijk aanwezige 17-keto-steroiden worden hierbij tevens gereduceerd tot stoffen die de Zimmermann-reactie niet meer geven.
2. Oxydatie van alle 17-hydroxy-steroiden tot 17-keto-steroiden met natriumbismuthaat.
3. Extractie, zuivering en bepaling met het Zimmermann's reagens van deze 17-keto-steroiden.

Commentaar.

Alle bepalingen zijn in duplo gedaan. De standaardafwijking van het gemiddelde (berekend over 80 duplobepalingen) bedroeg 11,5%. De gemiddelden van deze 80 duplobepalingen variëerden van 0 tot 39,1 mg. De standaardafwijking was groter (in percentage) naarmate het gehalte van de 24 uurs urine aan 17 kgs geringer was:

13,6% bij waarden van 0 - 7 mg (n = 26),

11,4% bij waarden van 7 - 15 mg (n = 35),

8,3% bij waarden van 15 - 40 mg (n = 19).

Uit de proeven van Birke e.a. (1958) bleek dat het bewaren van de urine vóór de 17 kgs bepaling op kamertemperatuur of bij 2°C tot 9 dagen geen quantitatieve veranderingen te weeg bracht. In ons laboratorium moest de urine soms langer worden bewaard alvorens in bewerking te kunnen worden genomen. Op kamertemperatuur is de urine uiterlijk gedurende één maand bewaard, in bevroren toestand uiterlijk gedurende vier maanden. Bij een onderzoek van 12 urinemonsters bleek dat het bewaren op kamertemperatuur gedurende 1 maand geen invloed had op het 17 kgs gehalte van de monsters. Het invriezen gedurende 1, 2, 3 en 4 maanden deed echter de waarden gering maar significant stijgen. Een verklaring hiervoor hebben wij niet. De stijging was echter geringer dan de standaardfout van de bepaling en had geen invloed op de uitkomsten van de statistische berekeningen.

Het 99% betrouwbaarheidsinterval van de normale waarden is volgens Diczfalusy e.a. (1955) voor vrouwen (17-47 jaar) 2,9 - 18,9 mg (gemiddeld 10,9 mg) per 24 uur en voor mannen (22-37 jaar), 5,7 - 25,3 mg (gemiddeld 15,5 mg per 24 uur.

F. De biologische halfwaarde-tijd van toegediend cortisol.

Voor dit onderzoek werd in een tijdsverloop van 30 minuten een infuus ingebracht van 50 mg cortisol (opgelost in 10 ml alcohol 50%) in 250 ml glucose 5%. Bloed werd afgenomen vlak voor het inbrengen van het infuus en vervolgens 30, 60, 120 en 180 minuten nadat het infuus voor de helft was ingelopen.

Van de verkregen monsters werd op de eerder beschreven wijze de concentratie van 17,21-dihydroxy-20-keto-steroiden bepaald .

G. Remming van de synthese van 11-hydroxy-steroiden met behulp van SU-4885 (2-methyl-1,2-bis-(3-pyridyl)-1-propanon).

SU-4885 remt selectief de 11-hydroxylering in bijnierschors. Van de biologisch actieve 11-hydroxy-steroiden worden dus gesynthetiseerd:
cortisol, corticosteron en aldosteron (Liddle, 1958, 1959). Bij een intact hypophyse-bijnierschors-systeem zal de daling van de plasma-cortisol-spiegel tot gevolg hebben

dat meer ACTH wordt gesecerneerd. Onder invloed hiervan zal in de bijnierschors de secretie van "precursors" van corticosteron en cortisol (met name van DOC en Reichstein's substantie S) toenemen. Deze toename van de secretie van Reichstein's substantie S zal zich weerspiegelen in een stijging van de 17, 21-dihydroxy-20-ketosteroiden concentratie in het plasma en een toename van de 17 kgs excretie in de urine.

Een normale reactie op de toediening van SU-4885 betekent evenwel niet dat ook een normale reactie zal optreden indien de patiënt wordt onderworpen aan een ernstige acute belasting (Schindler, 1962; Schuster, 1962).

Onze patiënten kregen gedurende 2 dagen om de 6 uur 750 mg SU-4885 per os. Twee dagen vóór, tijdens en twee tot vier dagen na de toediening werd de 17 ks en 17 kgs excretie in de urine bepaald.

H. Statistische Bewerking.

Bij de bespreking van de resultaten wordt meermalen bij gevonden verschillen het woord significant gebruikt. Tenzij anders is aangegeven bedoelen wij hiermee dat het verschil werd gevonden na toetsing bij een betrouwbaarheidsdrempel van $\alpha \leqslant 0,05$

I. De patiënten.

Alleen patienten, bij wie de diagnose van een acute microbiële ziekte kon worden gesteld of zeer aanneme-

lijk worden gemaakt, werden in het onderzoek opgenomen. Vóór de ziekte waren zij allen gezond, naderhand zijn zij allen hersteld. Zoals reeds in de inleiding is vermeld had geen der patiënten buiten de infectieziekte een andere afwijking waarvan bekend was of mocht worden aangenomen dat zij d ecretie of het metabolisme van de glucocorticoiden konden beïnvloeden. Tijdens de acute phase was de maximum temperatuur minstens 39,1°C. Geen van de patiënten gebruikte medicamenten waarvan bekend is dat zij de kleurreactie geven met het Porter-Silber of Zimmermann reagens. Patiënten met glucosurie werden buitengesloten van het onderzoek. Een overzicht van de gegevens van de patiënten wordt gegeven in tabel II. In de letter-cijfercombinatie waarmee de patiënten in deze tabel zijn aangeduid, vormen de eerste twee letters de initialen. Het getal geeft de leeftijd aan De laatste letter drukt het geslacht uit. In de tabel zijn de vrouwen tesamen genomen, evenals de mannen. De volgorde is die van de leeftijd.

Tabel II

Overzicht van de gegevens van de patienten

patient	leeftijd	geslacht	diagnose	bloed-druk bij opneming (mm Hg)	bloed-druk tijdens herstel (mm Hg)
He. 15v	15	v	typhus abdominalis	120/60	110/55
Li. 29v	29	v	meningitis door Listeria monocytogenes	120/70	115/80
Du. 40v	40	v	lobaire pneumonie zonder bekende verwekker	175/90	125/75
Fr. 49v	49	v	broncho-pneumonie met pleuritis zonder bekende verwekker	125/85	115/70
Ba. 50v	50	v	meningitis door Listeria monocytogenes	125/80	115/80
Do. 53v	53	v	lobaire pneumonie zonder bekende verwekker	140/80	135/85
Wa. 15m	15	m	gastro-enteritis zonder bekende verwekker	140/90	115/80
Be. 17m	17	m	lymphoreticulosis benigna (kattenkrabziekte)	125/70	120/70
Ma. 17m	17	m	paratyphus B (Salm. paratyphi B)	140/90	120/80
Sc. 18m	18	m	bronchopneumonie door D. pneumoniae (type 2)	115/75	--
Zw. 18m	18	m	lobaire pneumonie door D. pneumoniae (type 2)	95/60	110/60
No. 20m	20	m	sepsis door Micrococcus pyogenes	150/85	130/85
Wij. 20m	20	m	meningitis door D. pneumoniae (type 33)	110/70	120/80
Vo. 21m	21	m	meningo-encephalitis lymphocytaria zonder bekende verwekker	110/80	95/60
Ho. 22m	22	m	meningitis lymphocytaria zonder bekende verwekker	150/50	120/80
Gr. 23m	23	m	ornithosis	125/70	--
Sc. 24m	24	m	lobaire pneumonie door D. pneumoniae (type ?)	85/60	130/65
Ko. 26m	26	m	sepsis door micrococcus pyogenes	150/95	135/85
Kr. 26m	26	m	meningitis door N. meningitides	170/90	130/80

patiënt	leeftijd	geslacht	diagnose	bloed-druk bij opneming (mm Hg)	bloed-druk tijdens herstel (mm Hg)
Gr. 33m	33	m	lobaire pneumonie door D. pneumoniae (type ?)	140/80	130/85
Ko. 33m	33	m	meningo-encephalitis lymphocytaria zonder bekende verwekker	135/85	140/70
Bo. 39m	39	m	segmentale pneumonie door D. pneumoniae (type 27)	85/65	120/80
Mi. 43m	43	m	sepsis door Micrococcus pyogenes	145/90	130/80
Tr. 43m	43	m	typhus abdominalis	135/85	140/90
Gr. 44m	44	m	paratyphus B (Salm. paratyphi B)	120/80	120/90
Sl. 46m	46	m	sepsis met meningitis door N. meningitides	130/80	105/75
Be. 50m	50	m	lobaire pneumonie zonder bekende verwekker	140/80	110/75
Be. 51m	51	m	paratyphus B (Salm. stanley)	140/100	120/70
Gr. 53m	53	m	sepsis met meningitis door D. pneumoniae (type 16)	180/50	125/65
Za. 55m	55	m	segmentale pneumonie zonder bekende verwekker	140/90	135/90

HOOFDSTUK III

DE FUNCTIE VAN DE BIJNIERSCHORS BIJ ERNSTIGE INFECTIES GEDURENDE DE EERSTE OPNAMEDAGEN

Als maatstaf voor de functie van de bijnierschors werden genomen de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed en de uitscheiding van 17-ketogene steroiden en 17-keto-steroiden in de urine per 24 uur. De 17-keto-steroiden excretie is lange tijd gebruikt om een indruk te krijgen over de bijnierfunctie, hoewel deze een weinig exacte maat isvoor de totale dagproductie van de glucocorticoiden van de bijnierschors. De 17-ketogene steroiden excretie voldoet in dit opzicht beter. Gezien het belang dat door sommige auteurs wordt gehecht aan de 17-keto-steroiden excretie in verband met een veronderstelde correlatie met de resistentie ten opzichte van infecties, werd toch ook aan de 17-keto-steroiden excretie aandacht gegeven. Een hogere graad van nauwkeurigheid voor het vaststellen van de totale dagproductie van de bijnierschors bieden de isotoop-verdunningsmethoden met behulp van radio-actieve steroiden. In de tijd dat ons onderzoek werd verricht, stond een dergelijke methode echter nog niet tot onze beschikking.

A. Concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het plasma op de eerste dag van opneming.

Bij 17 patiënten werd, zo spoedig als dit op de dag van opneming mogelijk was, bloed afgenomen voor de bepaling van de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het plasma. Het onderzoek werd bij een aantal van deze patiënten herhaald nadat gedurende 1 tot 14 dagen de lichaamstemperatuur beneden 38°C was gebleven. De op deze wijze verkregen gegevens zijn verwerkt in tabel III.

Tabel III

Concentratie 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het plasma direct na de opneming en in de periode van herstel.

Patiënt	Gesl.	Leeftijd	Ziektedag waarop het onderzoek is geschied	Conc. (γ % op dag van opneming	Aantal dagen in het ziekenhuis met Koorts (≥38°C)	Conc. (γ %) tijdens herstel* (temp. < 38°C)
He. 15v	v	15	10	32, 7	22	16, 9
Du; 40v	v	40	11	35, 4	1	16, [illegible]
Fr. 49v	v	49	8	21, 5	3	13, 1
Ba. 50v	v	50	4	41, 7	13	5, 7
Do. 53v	v	53	2	50, 8	5	16, [illegible]
Wa. 15m	m	15	3	32, 1	7	[illegible], 0
Zw. 18m	m	18	2	34, 5	6	-
Sc. 18m	m	18	1	31, 7	2	16, 8
Wij. 20m	m	20	2	39, 1	5	-
Vo. 21m	m	21	8	27, 0	5	-
Gr. 23m	m	23	11	32, 0	3	-
Ko. 26m	m	26	4	34, 9	17	7, 8
Kr. 26m	m	26	3	44, 3	4	5, [illegible]
Bo. 39m	m	39	2	27, 7	2	8, 2
Sl. 46m	m	46	2	41, 5	10	7, [illegible]
Be. 50m	m	50	4	44, 4	1	16, [illegible]
Za. 55m	m	55	5	30, 3	2	-

*Het tijdsverloop tussen de dag waarop het bloed werd afgenomen en de dag waarop voor het eerst de temperatuur daalde tot beneden 38°C is verschillend voor de verschillende patiënten.

Bij 16 patiënten bleek de concentratie van de eerste opnamedag hoger te zijn dan de hoogste waarde die door Peterson e. a. (1957) nog als normaal werd opgegeven. Slechts de plasmaspiegel van 1 patiënte (Fr. 49v) lag beneden deze concentratie. Niettemin was ook deze spiegel duidelijk hoger dan de waarde die bij deze patiënte werd gevonden nadat de temperatuur tot beneden 38°C was gedaald. De patiënten Zw. 18m en Bo. 39m, die bij opneming een systolische bloeddruk hadden die lager was dan 100 mm Hg, vielen niet op door zeer hoge of zeer lage concentraties van de steroiden in het bloed.

In de tabel is tevens aangegeven op welke ziektedag de opneming geschiedde. Uit onderstaand spreidingsdiagram (fig. 1) is duidelijk te zien dat er bij de door ons gevonden waarden geen verband was tussen de hoogte van de plasmaspiegel van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden op de eerste dag van opneming en het aantal dagen gedurende welke de patiënten reeds ziek waren toen zij werden opgenomen.

Uit figuur 2 blijkt dat bij de door ons onderzochte patiënten de steroiden spiegel in het bloed op de dag van opneming niet correleerde met de spiegel gevonden nadat de temperatuur was gedaald tot beneden 38°C. Er was dus geen samenhang tussen de graad van hyperfunctie van de bijnierschors in de zieke phase en de mate waarin de activiteit nadien was gedaald.

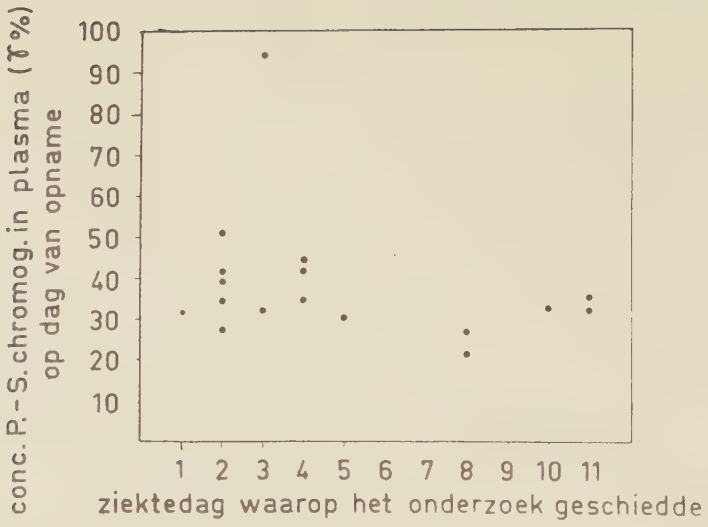


Fig. 1 Spreidingsdiagram van de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden (Porter - Silber chromogenen) in het bloed op de dag van opneming ten opzichte van de ziektedag waarop het onderzoek is geschied.

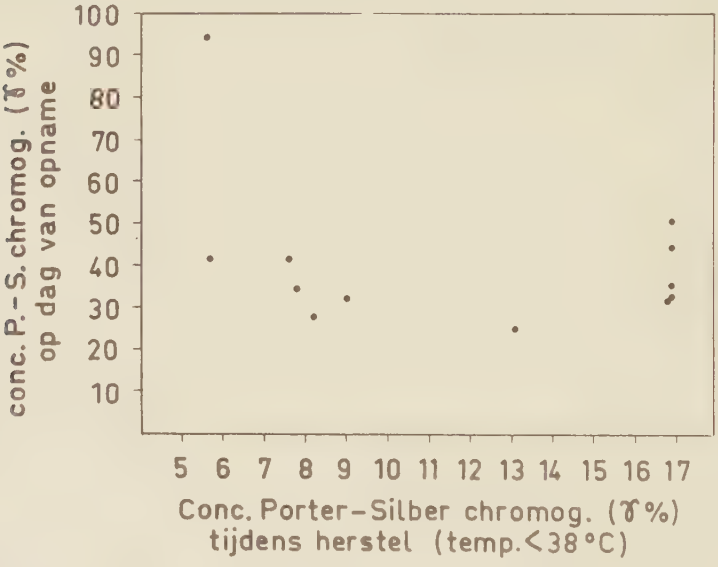


Fig 2 Spreidingsdiagram van de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden (Porter - Silber chromogenen) in het bloed op de dag van opneming ten opzichte van de concentratie nadat de temperatuur was gedaald tot beneden 38°C.

De waarden voor de concentraties van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed, gevonden nadat de temperatuur tot beneden 38°C was gedaald, lagen bij 10 van de 12 patiënten binnen de door Peterson e. a. (1957) aangegeven grenzen van normaal. De patiënten Ba. 50v en Kr. 26m hadden juist subnormale waarden. Incidentele normale waarden sluiten een verminderde bijnierschorsfunctie echter niet uit.

B. Invloed eventueel dagrhythme.

Bij vrijwel geen van de patiënten was het mogelijk reeds op de eerste dag van opneming op betrouwbare wijze de urine van een volle 24 uur te verzamelen voor de bepaling van metabolieten van cortisol. Wat betreft de functie van de bijnierschors was dus de concentratie van van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed het enige gegeven dat in die periode kon worden verkregen. De steroiden-concentratie in het bloed kan echter slechts inzicht geven in de toestand gedurende een kort moment en kan door factoren, die van uur tot uur kunnen wisselen, worden beïnvloed. Zo zullen de waarden, gevonden op de eerste dag van opneming, in de eerste plaats zijn bepaald door de klinische toestand, de "stress", op het moment dat het bloed werd afgenomen. Daarnaast echter zou een dagrhythme - indien aanwezig - mede een rol hebben kunnen gespeeld. Bij normalen immers is de cortisol

plasmaspiegel het hoogst in de vroege ochtenduren, het laagst omstreeks middernacht. (Perkoff e.a.; 1954, Migeon e.a., 1956).

De klinische toestand van de onderzochte patiënten was bij de opneming zonder uitzondering ernstig. In dit opzicht vormden zij een homogene groep. De tijdstippen van de dag, waarop zij in het ziekenhuis kwamen, waren echter wisselend. Teneinde na te gaan of de hoogte van de steroiden plasmaspiegels direct na de opneming mede onder invloed stond van een bepaald dagrhythme, werd bij een aantal patiënten gedurende meerdere tijd tippen van de dag de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed bepaald. Een overzicht van de uitkomsten geeft tabel IV.

Beschouwing van deze tabel wekt niet de indruk dat een bepaald dagrhythme aanwezig is. Wel geven de getallen de indruk dat de concentratie, naarmate de patiënten langer in het ziekenhuis waren en hun toestand onder de behandeling verbeterde, geleidelijk daalden. Het antwoord op de vraag of van een dagrhythme al dan niet sprake was, werd als volgt benaderd.

In tabel V zijn ter vergelijking opgenomen de bloedspiegels die in de ochtenduren en in de avonduren zijn gevonden. Indien een dagrhythme als bij gezonden aanwezig was, zouden de concentraties 's ochtends duidelijk hogere waarden moeten bereiken dan de concentraties 's avonds.

Tabel IV

Conc. (γ %) 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in plasma op verschillende tijdstippen in de eerste dagen van de opname

Plasma conc. (γ %) van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden

	1e kalenderdag van opname				2e kalenderdag van opname				3e kalenderdag van opname				4e kalenderdag van opname				5e kalenderdag van opname			
Pat.	7-9 u.	9-12 u.	12-18 u.	18-23 u.	7-9 u.	9-12 u.	12-18 u.	18-23 u.	7-9 u.	9-12 u.	12-18 u.	18-23 u.	7-9 u.	9-12 u.	12-18 u.	18-23 u.	7-9 u.	9-12 u.	12-18 u	18-23 u
He. 15 v				32, 7	54. 4			26. 8	34. 5											
Du. 40 v			35. 4	19. 7	19. 2															
Ba. 50 v					41. 7			35. 2	35. 7											
Sc. 18 m				31. 7	18. 7															
Zw. 18 m				34. 5	23. 3															
Wij. 20 m			39. 1	44. 5			17. 3													
Gr. 23 m				32. 0	34. 4			26. 8												
Ko. 26 m					34. 9		24. 9		26. 9		27. 1		28. 4							
Bo. 39 m	27. 7	29. 8	36. 3	22. 1																
Mi. 43 m															21. 0		17. 0		9. 2	
Za. 55 m				30. 3	28. 6				25. 6											

Tabel V

Plasmaconcentraties van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden (γ%) op twee tijdstippen na opneming *

Patiënt	Plasmaconc. van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden (γ%)				
	7-9 u.	18-23 u.	7-9 u.	Waarde 7-9 u. minus waarde 18-23 u.	Waarde in eerste afgenomen bloed minus waarde in ± 12 uren later afgenomen bloed.
Ba. 50v	41, 7	35, 2		+ 6, 5	+ 6. 5
Ko. 26m	34, 9	24, 9		+ 10, 0	+ 10, 0
Bo. 39m	27, 7	22, 1		+ 5, 6	+ 5, 6
He. 15v**		32, 7	54, 4	+ 21, 7	- 21, 7
Du. 40v		19, 7	19, 2	- 0, 5	+ 0, 5
Zw. 18m		34, 5	23, 3	- 11, 2	+ 11, 2
Sc. 18m		31, 7	18, 7	- 13, 0	+ 13, 0
Gr. 22m		32, 0	34, 4	+ 2, 4	- 2, 4
Mi. 43m		21, 0	17, 0	- 4, 0	+ 4, 0
Za. 55m		30, 3	28, 6	- 1, 7	+ 1, 7

* Behalve bij patiënt Mi. 43m is het onderzoek gedaan op de eerste opnamedag.

** De temperatuur van patiënte He. 15v was tussen 7-9 uur 0, 5°C hoger dan tussen 18-23 uur. Bij de overige patiënten was op het moment dat het bloed voor de tweede keer werd afgenomen de temperatuur gedaald en de klinische toestand verbeterd.

Bij de patiënten Ba. 50v, Ko26m en Bo. 39m werd het bloed voor de eerste maal tussen 7 en 9 uur afgenomen, voor de tweede maal tussen 18 en 23 uur. Bij de overige zeven patiënten was de volgorde omgekeerd. Uit de verkregen uitkomsten blijkt dat de waarden die 's ochtends werden gevonden niet significant hoger liggen dan de avondwaarden. Wel lijkt - zoals reeds is vermeld - er een tendens te zijn dat de concentraties in de bloed-

monsters, die bij de eerste bloedafname werden verkregen, hoger liggen dan de concentraties in de ongeveer twaalf uren later afgenomen monsters. De tendens tot dalen lijkt parallel te gaan met de verbetering in de klinische toestand die bij alle patiënten, behalve He. 15v, reeds in twaalf uren was opgetreden. He. 15v was bij de tweede bloedafname duidelijk zieker. In tegenstelling tot de overige patiënten was bij haar de temperatuur niet gedaald, maar 0,5°C gestegen. Indien deze patiënte buiten beschouwing wordt gelaten, blijken de eerste afgenomen bloedmonsters een significant hogere steroiden concentratie te hebben dan de twaalf uur later verkregen monsters. Deze gegevens steunen dus de veronderstelling dat de ernst van de toestand de grootste invloed heeft gehad op de spiegel van de 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed. Een dagrhythme kon dus niet worden aangetoond. Zo een rhythme al bestond dan was het effect hiervan toch zo gering dat dit werd overvleugeld door de zoveel grotere invloed van de "stress".

C. Vergelijking van de biologische halfwaarde tijd ($T\frac{1}{2}$) van toegediend cortisol zo spoedig mogelijk na opneming en in de periode van herstel.

Van vier patiënten werd de $T\frac{1}{2}$ van toegediend cortisol nagegaan zo spoedig mogelijk na de opneming en kort

voór het ontslag uit het ziekenhuis. De resultaten zijn grafisch weergegeven in figuur 3.

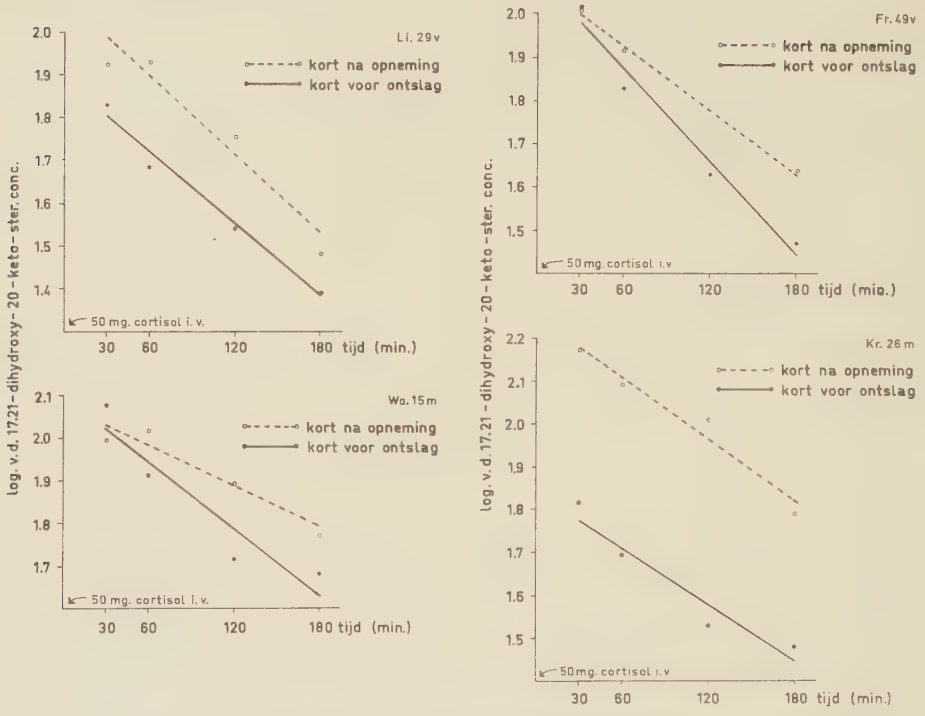


Fig. 3. $T\frac{1}{2}$ van 50 mg cortisol, intraveneus toegediend aan vier patiënten in de zieke phase en in de phase van herstel.

De lijnen in de figuur geven weer de logarithmen van de gevonden 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden concentraties in het plasma in functie van de tijd. Hierbij kunnen de volgende opmerkingen worden gemaakt:

1. Er zijn geen duplo bepalingen verricht omdat anders de hoeveelheid af te nemen bloed bij deze ernstig zieke patiënten ons inziens te groot moest worden geacht (voor vier duplobepalingen reeds 175 à 200 ml in drie uur tijds). Hierdoor is het niet mogelijk een

toets op rechtlijnigheid toe te passen. De veronderstelling, dat rechtlijnigheid wel aanwezig is, lijkt redelijk daar deze volgens de literatuur gegevens steeds wordt gevonden indien wel meer bepalingen uit één bloedmonster zijn gedaan.

Indien van deze veronderstelling wordt uitgegaan blijkt dat noch tussen de beide phasen (kort na de opneming en kort voor ontslag) enerzijds, noch tussen de patiënten anderzijds, de hellingscoëfficiënten van de gevonden lijnen significant van elkaar verschilden. (voor beide criteria was $P = 0.35$)

2. Indien mede op grond van de hierboven genoemde uitkomsten wordt aangenomen dat er ook in werkelijkheid geen invloed van de phasen en geen invloed van de patiënten op de helling van de lijn bestaat, rest nog de vraag of er niveau verschillen tussen de gevonden lijnen aanwezig zijn. Bij het uitvoeren van de covariantie analyse op de niveaus bleek dat de interactie tussen de invloed van de ziekte toestand en de patiënten invloed sterk significant aanwezig was ($P < 0.0001$). Dit betekent dus dat het niveau van de lijn in de phase kort na opneming verschilt van dat in de phase kort voor ontslag, maar dat de grootte van dit verschil van patiënt tot patiënt anders kan zijn.

3. De gemiddelde biologische half-waardetijd van het

toegediende cortisol in de acht gevallen bedroeg 116 minuten (95% betrouwbaarheids interval: 103 minuten - 134 minuten).

Het belangrijkste resultaat lijkt te zijn dat in de groep van vier patiënten de half-waarde tijd van 50 mg - intraveneus - toegediend cortisol, bepaald in de zieke phase, niet significant verschilde van die, bepaald in de gezonde phase.

D. De excretie van 17-ketogene steroiden gedurende een van de eerste etmalen van het verblijf in het ziekenhuis.

Het was niet mogelijk reeds direct na binnenkomst bij de patiënten die hiervoor in aanmerking kwamen, te beginnen met het verzamelen van de urine voor de 17 kgs en 17 ks bepalingen. Pas nadat de klinische toestand enigszins was verbeterd (veelal aan het eind van het eerste etmaal na opneming of in de loop van het tweede of derde etmaal na opneming) waren moeilijkheden als incontinentie overwonnen en lukte het de patiënten op tijd de blaas te ledigen.

Tabel VI geeft de waarden van de 17 kgs excretie van 13 patiënten gedurende één van de drie eerste etmalen na opneming. In de tabel is niet opgenomen patiënt Be. 50m die in 14 uren de - voor deze periode hoge - 17 kgs excretie had van 17,4 mg.

In de tabel is ook aangegeven op welke ziektedag het onderzoek werd gedaan. Tevens wordt vermeld de concentratie in het bloed van de 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden op een of meerdere tijdstippen van dezelfde periode waarin ook de urine werd verzameld.

Tabel VI

17 ketogene steroiden excretie in de urine in de zieke phase en in de reconvalescentie phase.

Patiënt	Ziekte-daag waarop eerste urine is verzameld	17 kgs excretie (mg/24 uur)			Conc. 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed (γ %) tijdens het eerste etmaal* waarin urine kon worden verzameld.
		0-24u. of 24-48 u. na opneming	48-72u. na opming	een half jaar na de ziekte	
Sc. 18m	2	40, 9	19, 3	-	18, 7
Bo. 39m	2	37, 6	22, 3	-	29, 8; 36, 3; 22, 1
Zw. 18m	3	40, 2	16, 7	-	-
Wij. 20m	3	28, 9	-	-	26, 0; 17, 3
Ba5 50v	4	24, 7	7, 5	5, 0	41, 7; 35, 2
Ko. 26m	4	18, 7	14. 0	18, 0	34, 9; 24, 9
Vo. 21m	9	12, 1	12, 9	-	-
Gr. 33m	4		6, 7	8, 9	-
No. 20m	5		7, 4	10, 5	-
Kr. 26m	5		16, 4	13, 5	-
Ko. 33m	10		8, 5	-	-
He. 15v	11		6, 4	8, 8	34, 5
Gr. 44m	13		34, 3	10, 5	-

*De tijdstippen van de dag, waarop de bloedmonsters zijn verkregen, zijn voor de verschillende patiënten niet gelijk.

Uit de tabel blijkt dat bij 6 van de 13 patiënten de excretie van 17 kgs hoger was dan de bovengrens van normaal zoals die door Diczfalusy e.a. (1955) is aangegeven (Sc. 18m, Bo. 39m, Zw. 18m, Wij20m, Ba. 50v en Gr. 44m). Behalve bij patiënt Gr. 44m kon bij deze patiënten reeds gedurende het eerste of tweede etmaal na opneming nauwkeurig 24 uurs urine worden verzameld. De overige 7 patiënten hadden een volgens deze maatstaven normale uitscheiding. Bij 5 hunner werd de uitscheiding eveneens een half jaar na de ziekte bepaald (Ko. 26m, Gr. 33m, No. 20m, Kr. 26m, He. 15v). De toen gevonden waarden waren ongeveer van dezelfde orde van grootte. In deze groep van 7 patiënten zijn echter 5 patiënten bij wie de urine pas in het derde etmaal na opneming kon worden verzameld. Indien nu de 7 patiënten, bij wie het onderzoek reeds het eerste of tweede etmaal na opneming kon worden verricht, gerangschikt worden in één groep en de 6 patiënten, bij wie dit pas in het derde etmaal na opneming mogelijk was , in een andere, blijkt het niveau van de excretie van de eerste groep significant hoger te zijn dan dat van de tweede groep. Indien van de patiënten van deze eerste groep de excretie gedurende het volgende etmaal (dus het derde etmaal na opneming) vergeleken wordt met de excretie van de patiënten van de tweede groep, eveneens dus in het derde etmaal na opneming, kan een systematisch verschil in niveau niet meer worden aangetoond.

De 13 patiënten zouden ook verdeeld kunnen worden in ongeveer even grote groepen waarvan één de patiënten bevat, bij wie de bepaling uiterlijk de 4e ziektedag is gedaan en de ander de patiënten, bij wie deze na de 4e ziektedag is verricht. Een significant niveau-verschil van de 17 kgs excretie tussen deze twee groepen blijkt niet aanwezig.

Uit deze gegevens is te concluderen dat reeds een verblijf van 24 tot 48 uur in het ziekenhuis van grote invloed is geweest op de excretie van 17 kgs. De hierbij gevonden daling ging gepaard met een verbetering in de toestand van de patiënt, De patiënten waren bij opneming zeer ziek zo niet apathisch en maakten niet de indruk dat de opneming zelf een psychische belasting voor hen heeft betekend. Ons inziens is daarom gedurende de eerste etmalen na de opneming de ernst van de ziektetoestand de voornaamste bepalende factor geweest voor de mate van activiteit van de bijnierschors.

Bij vier patiënten werd op de dag dat de urine werd verzameld meer dan eenmaal de 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden spiegel in het plasma bepaald. Meerdere van de gevonden waarden waren verhoogd ten opzichte van de normale waarden van Peterson e. a. (1957). De verhoogde of hoognormale steroiden plasmaspiegels bij drie van deze patiënten bleken gepaard te gaan met een verhoogde 17 kgs excretie (Bo. 39m, Wij. 20m, Ba. 50v),

bij één patiënt echter met een normale 17 kgs excretie (Ko. 26m). De hoogte van de slechts eenmaal bepaalde steroiden spiegel in het bloed bij de patiënten Sc. 18m en He. 15v was niet in overeenstemming met de in de urine uitgescheiden hoeveelheid 17 kgs. Incidentele bepalingen van steroiden in het bloed bieden echter geen inzicht in de totale dagproductie van glucocorticoiden van de bijnierschors.

E. De excretie van 17-keto-steroiden gedurende een van de eerste etmalen van het verblijf in het ziekenhuis.

Eveneens gedurende een van de drie eerste etmalen na opneming werd bij 14 patiënten de 17 ks excretie bepaald.

Deze bleek bij Du. 40v, Do. 53v en Kr. 26m niet te liggen binnen het 95% betrouwbaarheidsinterval van normale waarden zoals dat werd berekend uit de gegevens van Hamburger (1948). Bij Du. 40v en Do. 53v werden hogere waarden gevonden, bij Kr. 26m was de excretie lager. De normale individuele variatie is echter zeer groot (tabel I). Het leek daarom gewenst de bij de patiënten in de zieke phase gevonden excretie te kunnen toetsen aan de excretie op een tijdstip dat zij weer als volkomen normaal konden worden beschouwd. In verband hiermede werd bij elke patiënt tevens de 17 ks uitscheiding bepaald een halfjaar en/of een jaar na de ziekte. De uitkomsten

zijn weergegeven in tabel VII.

Tabel VII

17-keto-steroiden excretie in de urine in de zieke phase en geruime tijd na volledig herstel

patiënt	Ziekte-dag, waarop eerste 24 uurs urine is verzameld	Dag van opneming waarop eerste urine is verzameld	Excretie in de urine van 17-keto-steroiden(mg)		
			Ged. één van de eerste 3 etm. na opneming (temp 38°C)	Gedurende één dag, een half jaar na de ziekte	Gedurende één dag, een jaar na de ziekte.
Sc. 24m	2	1	5,0	9,4	10,3
Bo. 39m	2	1	8,4	-	8,0
Do. 53v	3	2	15,7	3,2	5,6
Zw. 18m	3	2	5,4	-	8,8
Ba. 50v	4	2	8,6	5,0	4,9
No. 20m	4	2	14,2	11,8	-
Ko. 26m	4	2	8,5	17,6	19,1
Gr. 33m	4	3	4,4	6,2	6,6
Kr. 26m	5	3	2,6	11,1	-
Za. 55m	7	3	4,2	4,0	5,6
He. 15v	11	3	5,2	7,2	5,8
Du. 40v	11	1	11,5*	-	11,3
Gr. 23m	11	2	11,0	-	10,1
Gr. 44m	13	3	11,0	14,3	9,6

* 20 uurs urine;

Uit de getallen blijkt dat de verschillen tussen de waarden, gevonden kort na de opneming en een half jaar

of een heel jaar na het ontslag, ver van significant zijn. Bij het merendeel (9 van de 14) van de patiënten kon de urine reeds het eerste of tweede etmaal van opneming worden verzameld. Slechts bij 5 patiënten kon de bepaling pas in het derde etmaal van opneming geschieden. Het verschil tussen de groepen van respectievelijk 9 en 5 patiënten, wat betreft het percentage patiënten dat een hogere excretie had dan een half jaar of een heel jaar later, is niet significant. De groepen die hiervoor kunnen worden vergeleken, zijn echter bijzonder klein. Hetzelfde geldt voor de groepen die men kan vormen naar het aantal dagen dat de patiënten reeds ziek waren toen bij hen met het onderzoek kon worden begonnen zoals bijvoorbeeld de groep met patiënten, bij wie uiterlijk de 4e ziektedag urine werd verzameld en de groep met patiënten, bij wie na de 4e ziektedag de urine werd onderzocht.

Samenvatting.

Op de dag dat de patiënten werden opgenomen bleek de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed duidelijk verhoogd. Er waren geen aanwijzingen dat een eventueel dagrhythme van bepalende invloed was geweest op de gevonden bloedspiegels. Het kon niet worden aangetoond dat de half-waarde tijd van - in pharmacologische hoeveelheden - toegediend cortisol in de acute phase ongelijk zou zijn aan die in de phase van

herstel. Bij het merendeel van die patiënten, bij wie de 17 kgs excretie in het eerste of tweede etmaal van opneming kon worden nagegaan, werd een verhoogde excretie gevonden. In het derde etmaal van opneming werden echter - op een enkele uitzondering na - steeds waarden gevonden die vielen binnen de variatie van de groep van normale personen van Diczfalusy e. a. (1955). De 17 ks excretie gedurende de acute phase na de opneming verschilde in ons materiaal niet met de excretie een half jaar of een jaar na de ziekte. Het merendeel van de patiënten in deze laatste groep was onderzocht vóór het derde etmaal van opneming.

HOOFDSTUK IV

DE FUNCTIE VAN DE BIJNIERSCHORS BIJ ERNSTIGE INFECTIES GEDURENDE HET VERDERE BELOOP VAN DE ZIEKTE EN DE PERIODE VAN HERSTEL

A. De concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed.

Reeds uit de eerder vermelde gegevens was te verwachten, dat de aanvankelijk toegenomen bijnierschorsactiviteit gedurende het verdere beloop bij een verbetering van de ziektetoestand weer zou afnemen.

In overeenstemming met deze verwachting werd bij alle 8 in dit opzicht onderzochte patiënten reeds 24 uur na de opneming - op overeenkomstige tijdstippen van de dag - een daling in de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed gevonden. Ook bij de patiënte, bij wie de temperatuur na 24 uur was gestegen, was deze daling waar te nemen. Kort vóór de eerste bloedafname had zij echter een (kleine) ingreep ondergaan. (tabel VIII).

Tabel VIII

Daling van de spiegel van de 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het plasma in 24 uur

Patiënt	Concentratie (γ %) in eerste plasma monster*	Concentratie (γ %) 24 uur later	Daling concentratie (γ %)	Daling lichaamstemperatuur in 24 uur (°C)
He. 15v	32, 7	26, 8	5, 9	0, 1
Ba. 50v	41, 7**	35, 7	6, 0	-1, 0***
Sc. 18m	18, 7	16, 8	1, 9	0, 6
Wij. 20m	39, 1	17, 3	21, 8	1, 8
Gr. 23m	34, 4	26, 8	7, 6	1, 5
Ko. 26m	34, 9	26, 9	8, 0	1, 3
Mi. 43m	21, 0	9, 2	11, 8	0, 6
Za. 55m	28, 6	25, 6	3, 0	1, 8

*Het eerste plasmamonster werd bij alle patiënten op de dag van opneming verkregen, uitgezonderd bij patiënt Mi. 43m (op de 3e dag).

** Kort vóór dat bloed werd afgenomen is lumbaalpunctie gedaan.

***De temperatuur was in deze 24 uur gestegen, de algemene toestand van de patiënte was slechter.

Hoewel de daling van de steroiden concentratie gepaard ging met een daling van de lichaamstemperatuur, blijkt - het geringe aantal gevallen in aanmerking genomen - een verband tussen de grootte van de concentratieverschillen en die van de temperatuursverschillen niet aanwezig (fig. 4).

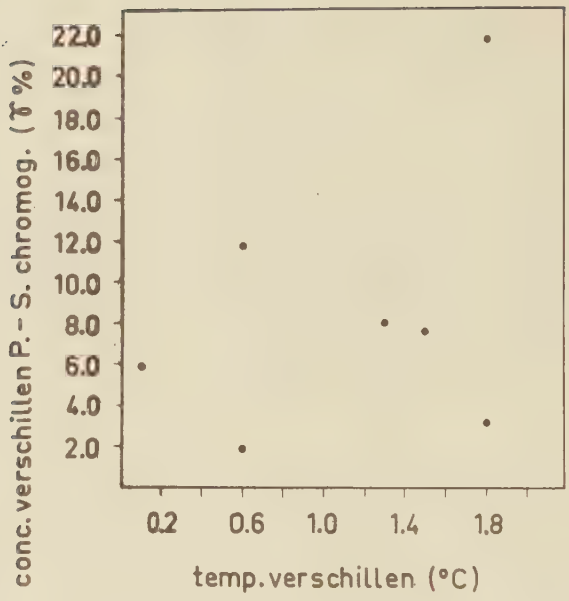


Fig. 4. Spreidingsdiagram van de concentratieverschillen van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden (Porter-Silber chromogenen) ten opzichte van de temperatuursverschillen die optraden 24 uren na de opneming.

B. De uitscheiding van 17-ketogene steroiden.

Bij 13 patiënten was het mogelijk de 17 kgs excretie regelmatig te vervolgen vanaf het eerste, tweede of derde etmaal na de opneming (fig. 5). Bij 11 van deze patiënten

was de excretie reeds in het 2e tot 4e etmaal na de opneming afgenomen(fig. 5a, 5c, 5f, 5g, 5i, 5m, 5n, 5p, 5q, 5r, 5s). Bij 5 patiënten uit deze groep werd binnen een week na de opneming zelfs een uitscheiding gevonden die lag beneden de door Diczfalusy e.a. (1955) aangegeven ondergrens van normaal (fig. 5i, 5p, 5q, 5r, 5s). Toch was - op de uitzondering Ko. 33m (fig. 5p) na - ook bij deze patiënten de excretie aanvankelijk zeer hoog (van Be. 50m (fig. 5s) kan worden aangenomen dat de eerste opnamedag de 17 kgs uitscheiding hoog is geweest daar het eerste onderzoek slechts urine van 14 uur betrof en hierin toch reeds 17,4 mg 17 kgs werden aangetroffen). Bij 2 patiënten was de uitscheiding van de 17 kgs gedurende de eerste etmalen na de opneming vrijwel stationnair.

De in ons materiaal gevonden sterke daling in de 17 kgs excretie kort na de opneming, komt dus overeen met wat in de literatuur is gemeld. Daar is gebleken dat een sterke daling in het verloop van 24 uur kan optreden, is het mogelijk dat bij de laatste patiënten het onderzoek, voor het aantonen van deze daling, te laat is begonnen. Deze tekenen van verminderde bijnierschorsactiviteit vielen samen met een duidelijke verbetering in de klinische toestand.

Zowel bij de bovenbesproken patiënten als ook bij een achttal anderen, bij wie echter het verzamelen van de urine pas na het 3e etmaal van de opneming kon geschieden (fig. 6), werd in het verdere beloop van de

ziekte en het herstel de 17 kgs excretie op verschillende tijdstippen nagegaan. Uit de grafieken lijkt een tendens tot een bepaald verloop in de tijd aanwezig. Een onderzoek naar één of ander verloop wordt echter belemmerd door de omstandigheid dat bij vele patiënten de waarnemingen niet op geheel overeenkomstige tijdstippen werden verricht. Men kan echter trachten het vraagstuk te benaderen door telkens van een groep patiënten voor iedere patiënt na te gaan of over een overeenkomstige periode de excretie was gedaald of gestegen. Op deze wijze te werk gaande blijkt het volgende.

1. Bij 10 patiënten, bij wie de verschillen tussen de waarden van de 17 kgs excretie gedurende één van de drie eerste etmalen na de opneming en op de eerste dag waarop de temperatuur lager was dan 38°C konden worden bepaald, bleek de excretie gedurende deze periode significant te zijn afgenomen.

2. Bij 8 patiënten, bij wie de excretie op de eerste dag met een temperatuur lager dan 38°C en op een dag ongeveer 6 maanden later vergeleken kon worden, waren de verschillen niet significant (P = 0,1). Op één na waren alle waarden op het laatste tijdstip hoger. Hoewel minder overtuigend dan bij de onder het vorige punt genoemde tijdstippen, waren er dus toch ook hier wel aanwijzingen dat de excretie, na de hier

aan voorafgegane daling, in dit tijdvak weer was gestegen.

3. Bij 7 patiënten, bij wie dit kon worden nagegaan, bleek de excretie in de periode tussen de eerste dag met de temperatuur beneden de 38°C en een tijdstip een jaar later, wel significant te zijn gestegen.

4. Bij 8 patiënten kon de 17 kgs excretie worden bepaald 1 maand en 6 maanden na de temperatuursdaling tot beneden de 38°C.. De verschillen waren niet significant.

5. Bij 8 patiënten was de vergelijking tussen de excretie 6 maanden en 12 maanden na de ziekte eveneens mogelijk. De stijging in dit tweede halfjaar na de ziekte was significant.

Samenvattend blijkt in de onderzochte groepen patiënten dat er een significante daling van de 17 kgs excretie in de koortsperiode was opgetreden. Er zijn aanwijzingen dat in het eerste halfjaar na de temperatuursdaling tot beneden 38°C de excretie was gestegen. Opvallend is dat in het tweede halfjaar na de ziekte een verdere significante stijging in de 17 kgs excretie waan te tonen.

C. De uitscheiding van 17-keto-steroiden.

De 17 ks excretie werd bij 20 patiënten vanaf uiterlijk het derde etmaal na de opneming gedurende kortere of langere tijd vervolgd (fig. 5).

Het aantal patiënten bij wie gedurende de eerste dagen na de opneming de 17 ks excretie sterk daalde was, in vergelijking met de 17 kgs excretie, geringer. Slechts 10 patiënten toonden dit patroon (fig. 5b, 5c, 5d, 5f, 5g, 5h, 5i, 5k, 5q, 5t). Bij 4 van deze patiënten werd in dezelfde periode tevens de 17 kgs excretie bepaald teneinde na te gaan of een zekere parallelliteit aanwezig was. De daling in de uitscheiding van deze metabolieten verliep inderdaad op dezelfde wijze als die van de 17 ks.

Bij 6 patiënten verliep de daling in de 17 ks excretie zeer geleidelijk (fig. 5j, 5m, 5n, 5p, 5r, 5s). Hier was er een minder duidelijke parallelliteit t.o.v. de 17 kgs uitscheiding. Deze daalde n.l. bij Vo. 21m (fig. 5j) en Ko. 26m (fig. 5m) eveneens geleidelijk, maar bij de overige 4 patiënten in deze groep was de daling van de 17 kgs uitscheiding veel scherper dan die van de 17 ks uitscheiding.

De 17 ks uitscheiding tenslotte bij He. 15v, Ma. 17m, Sc. 24m en Gr. 33m was in de acute phase vrijwel stationnair (resp. fig. 5a, 5e, 5l, 5o). De 17 kgs excretie, die bij He. 15v en Gr. 33m ook was nagegaan, toonde in deze phase hetzelfde beeld. (fig. 5a en 5o).

Eveneens bij het onderzoek van de 17 ks excretie werden kort na de opneming soms opvallend lage waarden gevonden. Bij 6 patiënten werden zelfs waarden gevonden die lager waren dan de ondergrens (gegevens Hamburger, 1948, tabel 1) van de normale individuele variatie (fig. 5h, 5j, 5l, 5m, 5n en 5q).

Ten aanzien van het verloop in de tijd van de 17 ks excretie kunnen dezelfde opmerkingen worden gemaakt als die genoemd bij de uitscheiding van de 17 kgs. Indien dezelfde werkwijze wordt gevolgd en groepen met patiënten worden gevormd bij wie een vergelijking tussen de 17 ks excreties op verschillende overeenkomstige tijdstippen mogelijk was, blijkt het volgende:

1. Hoewel de waarden van één van de eerste drie etmalen na opneming bij 11 respectievelijk 13 patiënten niet significant verschillend waren van die van een half jaar respectievelijk een jaar later, waren zij bij 13 patiënten wel significant hoger dan die van de eerste dag waarop de temperatuur beneden 38°C was gedaald.

2. Bij 8 patiënten respectievelijk 14 patiënten waren de uitkomsten van de eerste dag met een temperatuur beneden 38°C significant lager dan die 1 maand respectievelijk 2 maanden later.

3. Er waren te weinig patiënten om de verschillen tussen de excreties na te gaan op de tijdstippen 1 maand

en 2 maanden respectievelijk 1 maand en 3 maanden na de temperatuursdaling tot beneden 38°C. Bij 10 patiënten waren de verschillen tussen de uitkomsten van 2 en 3 maanden na deze temperatuursdaling niet significant.

4. De stijging in excretie bij 8 patiënten in de periode tussen 1 maand en 6 maanden na de temperatuursdaling tot beneden 38°C was niet significant. De verschillen tussen de uitkomsten op de tijdstippen 2 en 6 maanden (14 patiënten) respectievelijk 3 en 6 maanden (12 patiënten) na de temperatuursdaling waren niet significant. De excreties 2 en 12 maanden na de temperatuursdaling, verschilden bij 12 patiënten evenmin significant. De stijging die in de periode tussen 3 en 12 maanden na de ziekte leek opgetreden bij 12 patiënten was bijna significant ($0,05 < P < 0,1$).

5. De 17ks excretie bleek bij 13 patiënten in het tijdvak tussen 6 maanden en 12 maanden na de ziekte niet significant te zijn gestegen of gedaald.

Samenvattend blijkt in ons materiaal dat de verschillen die bij de 17 ks excretie op de verschillende tijdstippen werden waargenomen, minder uitgesproken waren dan de verschillen die bij de 17 kgs excretie werden gevonden. De 17 ks excretie bleek echter eveneens tijdens de koorts te zijn gedaald. Na 1 maand à 2 maanden was de

excretie weer duidelijk gestegen. De getallen bewijzen niet dat verder in het eerste halfjaar na de ziekte de excretie nog meer was toegenomen, in het tweede halfjaar na de ziekte lijkt de excretie evenmin verder te zijn gestegen.

Samenvatting.

Reeds binnen enkele dagen na de opneming bleek de aanvankelijk toegenomen concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed weer te zijn gedaald. Ook een vermindering van de excretie van 17 kgs - soms tot een subnormaal niveau - kon worden waargenomen. De laagste waarden van de 17 kgs bepalingen in de urine werden gevonden in de perioden van beginnend herstel. Het niveau van de uitscheiding van 17 kgs steeg vervolgens geleidelijk. Het duurde echter geruime tijd (tot meer dan 6 maanden) voor het - voor de betrokken patiënt normale - peil weer was bereikt. De verandering in de 17 ks excretie toonde - hoewel minder uitgesproken - een zekere parallelliteit met die van de 17 kgs.

HOOFDSTUK V

FUNCTIONELE RESERVE VAN HYPOPHYSE EN BIJNIERSCHORS IN DE PERIODE MET VERLAAGDE 17 KGS EN 17 KS EXCRETIE

Zoals uit de grafieken (fig. 5 en 6) reeds blijkt was er, nadat de temperatuur tot beneden 38°C was gedaald, bij meerdere patiënten een sterke afname in de excretie van 17 kgs en 17 ks, waarbij zelfs subnormale waarden werden bereikt.

Het leek nuttig na te gaan of in deze gevallen sprake was van een werkelijk onvermogen van de bijnierschors zelf om meer glucocorticoiden te secerneren dan wel van een verminderde activiteit ten gevolge van een onvermogen van de hypophyse meer ACTH te secerneren. Ook beide factoren zouden een rol hebben kunnen gespeeld. In het eerste geval zou stimulatie met exogeen of endogeen ACTH geen toename veroorzaken van de uitscheiding van metabolieten van cortisol. In het tweede geval zou, bij remming van de 11-hydroxylering en dus remming van de synthese van o. a. cortisol in de bijnierschors door

SU-4885, de hypophyse niet meer op de verlaagde plasmaspiegel van cortisol reageren met een vermeerderde secretie van ACTH. Was echter de functionele reserve van hypophyse en bijnier voldoende, dan zou na toediening van SU-4885 de secretie van ACTH en als gevolg hiervan de secretie van de directe "precursors" van cortisol toenemen. Deze processen zouden tot uiting komen in een stijging van de excretie van 17 kgs.

Zes patiënten werd gedurende 2 dagen 6 maal daags 750 mg SU-4885 toegediend in de periode dat de 17 kgs en 17 ks excretie waren gedaald tot een zeer laag niveau. De resultaten worden getoond in tabel IX en X.

Be. 17m, No. 20m. Be. 51m en Gr. 53m hadden vóór de proef een subnormale 17 kgs excretie. Bij Ba. 50v en Ko. 33m was de uitscheiding juist boven de ondergrens van normaal (normale variatie volgens Diczfalusy e. a., 1955). Bij alle patiënten was de excretie op de 2e dag van de toediening en/of de 1ste dag na de toediening, sterk toegenomen. Indien de resultaten vergeleken worden met die van de normale personen, onderzocht door Liddle e. a. (1958, 1959) en Gold e. a. (1960) kan gesproken worden van een normale reactie.

Tabel IX

Effect van SU-4885 op de 17 kgs excretie

17 kgs excretie in de urine (mg/24 uur)

Patient	Dag - 2	Dag - 1	SU-4885 6 dd 750 mg	SU-4885 6 dd 750 mg	Dag + 1	Dag + 2	Dag + 3	Dag + 4	na ± 3 maanden	na ± 6 maanden	na ± 12 maanden
Ba. 50v	3. 9	6. 9	11. 5	23. 3	13. 1	-	5. 8	3. 3	-	4. 9	6. 3
Be. 17m	5. 1	4. 5	5. 1	17. 2	27. 7	8. 3	-	-	-	6. 4*	13. 3
No. 20m	1. 8	2. 1	6. 6	24. 4	28. 0	10. 1	-	--	-	10. 5	-
Ko. 33m	7. 5	9. 1	18. 1	41. 5	32. 4	21. 3	18. 5	10. 7	-	-	-
Be. 51m	1. 2	2. 6	4. 5	18. 9	-	5. 9	5. 0	-	-	-	-
Gr. 53m	4. 7	4. 8	6. 6	20. 0	41. 9	17. 3	-	9. 6	8. 5	10. 3	13. 4

* 2 maanden na commotio cerebri met fracturen van been en arm

Tabel X

Effect van SU-4885 op de 17 ks excretie

17 ks excretie in de urine (mg/24uur)

Patiënt	Dag - 2	Dag - 1	SU-4885 6 dd 750 mg	SU-4885 6 dd 750 mg	Dag + 1	Dag + 2	Dag + 3	Dag + 4	na ± 3 maanden	na ± 6 maanden	na ± 12 maanden
Ba. 50v	5. 1	5. 8	5. 6	10. 0	9. 0	-	5. 2	3. 9	-	5. 0	4. 9
Be. 17m	4. 2	3. 5	1. 4	7. 0	6. 6	7. 0	-	-	3. 8	5. 9*	7. 2
No. 20m	2. 0	4. 7	4. 7	7. 9	9. 5	5. 0	-	-	-	11. 8	-
Ko. 33m	12. 0	12. 5	12. 0	28. 2	28. 4	22. 6	7. 8	13. 0	-	-	-
Be. 51m	4. 9	3. 4	5. 1	6. 8	-	5. 3	4. 4	-	-	-	-
Gr. 53m	3. 2	4. 2	3. 8	16. 2	12. 7	5. 5	2. 9	3. 0	7. 4	11. 7	12. 0

* 2 maanden na commotio cerebri met fracturen van been en arm.

Slechts van 3 patiënten (Be. 17m, No. 20m en Gr. 53m) kan worden gezegd dat vóór het experiment de 17 ks excretie duidelijk lager was dan in de periode dat zij als gezond konden worden beschouwd. Bij Ko. 33m en Be. 51m zijn geen latere waarden bekend, de excretie van Be. 51m lag echter onder het gemiddelde van normale mannen van deze leeftijd (Hamburger, 1948). Hoewel hier - zoals ook bij normale personen is te verwachten - de reactie op SU-4885 minder uitgesproken was, kon bij alle patiënten toch gedurende of direct na de toediening een stijging in de 17 ks excretie worden waargenomen.

Samenvattend geven de resultaten dus aan dat bij de onderzochte patiënten, in de periode waarin tekenen van verlaagde bijnierschorsactiviteit aanwezig waren, de functionele reserve van de bijnierschors en het vermogen van de hypophyse te reageren op een verlaagde cortisol plasmaspiegel niet waren gestoord.

HOOFDSTUK VI

NABESCHOUWING

De toediening van exogeen cortisol of daaraan verwante stoffen bij infectieus-toxische shock berust voornamelijk op de gedachte dat de bijnierschors onder deze omstandigheden te kort zou schieten, dat wil zeggen niet meer tot maximale functie in staat zou zijn hoewel recente onderzoekingen (Melby en Spink, 1958; Bennett e. a., 1962) zulk een opvatting niet steunen. Het lijkt niet waarschijnlijk dat bij die infectieuse processen, waarvan bekend is dat zij gepaard kunnen gaan met shock, de bijnierschors-functie pas tekort zou schieten nadat de vasculaire collaps reeds is opgetreden. Het ligt meer voor de hand te veronderstellen dat een hypofunctie, zo deze al bij shock bestaat, reeds in zekere mate aantoonbaar moet zijn vóór dat een hypotensie duidelijk wordt. Het leek daarom nuttig ook bij patiënten met een ernstige acute infectie, bij wie zich een vasculaire collaps niet manifesteerde, te trachten gegevens te verkrijgen over de functie van de bijnierschors die de resultaten van het onderzoek van Melby en Spink (1958) en Bennett e. a. (1962) zouden kunnen aanvullen. Onder hen bevonden zich

3 patiënten met een systolische tensie van 95 mm Hg of lager.

Bij dit onderzoek werd gebruik gemaakt van groepsbepalingen van steroiden in bloed (17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden) en in urine (17 kgs en 17 ks). Eventuele qualitatieve veranderingen in de samenstelling van de bepaalde groepen steroiden konden met deze werkwijze dus niet worden nagegaan.

Voor de bepaling van de bijnierschors-functie moest in de eerste etmalen na de opneming voornamelijk worden uitgegaan van bepalingen van steroiden in het bloed. Een bloed bepaling is uiteraard een momentopname. Er kan echter worden gesteld dat althans op het moment waarop de huisarts - op grond van de ernst van het ziektebeeld - opneming geïndiceerd achtte, de concentratie van 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden in het bloed duidelijk hoger lag, soms zelfs zeer veel hoger lag, dan bij normalen als hoogste waarden werden gevonden. Op zich zelf garandeert een hoge spiegel niet dat de bijnierschors een hyperfunctie heeft. De spiegel in het bloed wordt toch, behalve door de secretie, eveneens bepaald door de eiwitbinding van de steroiden, de diffusie, het metabolisme en de excretie. De secretie blijkt bij normalen onderhevig te zijn aan een dagrhythme (Perkoff e. a., 1954; Migeon e. a., 1956). Bij de - overigens uitvoerige - onderzoekingen door anderen bij patiënten met ernstige infecties reeds verricht, leek juist de mogelijke invloed

van dit dagrhythme op de gevonden hoge waarden nog niet voldoende nagegaan. Uit de resultaten van onze bloedbepalingen gedurende meerdere tijstippen van de dag blijkt dat een eventueel dagrhythme niet de enige factor kan zijn geweest die een bepalende invloed heeft gehad op de gevonden verhoogde concentraties van steroiden in het bloed. Eerder leek een verband te bestaan met de ernst van de ziekte op het moment van de bloedafname. Ook de 17 kgs excretie - voor zover deze tijdig kon worden onderzocht - wees in deze richting. Hier werden duidelijk verhoogde waarden gevonden. Deze laatste bevinding heeft daarom betekenis daar juist bij een verhoogde functie van de bijnierschors van een goede correlatie tussen dagproductie van cortisol en excretie van 17 kgs kan worden gesproken (Cope en Black, 1959). De binding aan de plasma eiwitten en hiermee samenhangend de diffusie zijn in dit onderzoek niet nagegaan. De vraag of de gevonden hoge spiegels samenhangen met een verhoogde eiwitbinding van cortisol lijkt echter te kunnen worden benaderd door een onderzoek naar de afbraaksnelheid van cortisol. Uit onderzoekingen van Mills e. a. (1960) en van Peterson e. a. (1960) blijkt toch dat de halfwaarde tijd van exogeen cortisol zowel in tracerdosis als in pharmacologische dosis wordt verlengd wanneer onder invloed van oestrogene stoffen een duidelijke toename in de eiwitbinding van cortisol heeft plaatsgevonden (Sandberg en Slaunwhite, 1959). Uit de proeven van Melby en Spink (1958) bleek

echter de $T\frac{1}{2}$ van cortisol, gegeven in grote dosis, bij patiënten met ernstige acute infecties en bij gezonde personen niet significant te verschillen. De gegevens van onze eigen proeven, waarbij niet willekeurig andere gezonde personen als contrôle dienden, maar de patiënt zelf in de herstelphase de contrôle leverde voor de waarden in de acute phase gevonden, wijzen in dezelfde richting ten opzichte van in pharmacologische hoeveelheden toegediend cortisol.

Ook de gegevens van onze aanvullende onderzoekingen wijzen er dus op dat in het stadium, waarin de patiënt nog ernstig ziek is en van een effect van de behandeling nog niet kan worden gesproken, de bijnierschors geen tekenen van onvoldoende functie vertoont, maar duidelijk met een verhoogde functie op de belasting blijkt te reageren. Ook twee van de drie patiënten, die in een praeshock toestand verkeerden toonden dit zelfde beeld. Bij de derde patiënt zijn de steroiden spiegel in het bloed en de 17 kgs excretie in de acute phase niet nagegaan.

De sterke vermindering van de bijnierschors-activiteit na de aanvankelijke hyperfunctie, zoals die in de literatuur wel is beschreven, werd ook bij het merendeel van onze patiënten gezien. Bij een deel van deze patiënten werden zelfs duidelijk te lage waarden voor de 17 kgs en 17 ks excretie bereikt. De tekenen van verminderde activiteit, zelfs van subnormale functie, indien de excretie een halfjaar of een jaar na de ziekte als norm wordt geno-

men, waren echter vooral uitgesproken in de periode dat duidelijk symptomen van beginnend herstel aanwezig waren, dus ook bij die patiënten waarbij een duidelijk te lage excretie werd gevonden. Deze periode moet dan ook niet worden verward met de "phase van uitputting" in het "algemene adaptatiesyndroom" van Selye. In de "phase van uitputting" zou immers de functie van de bijnierschors niet adaequaat meer zijn. In de kliniek is het echter bezwaarlijk de indeling van Selye te blijven volgen. Bovendien is het niet goed mogelijk de verdere stadia van de ziekte van onze patiënten te vergelijken met de stadia van Selye's "algemene adaptatiesyndroom" daar immers de therapie - die direct na opneming werd ingesteld - heeft ingegrepen in het natuurlijk beloop van de ziekte.

Het was opvallend dat geruime tijd kon verstrijken voordat van een volledig normale bijnierschors-activiteit kon worden gesproken. Met name bleek de 17 kgs excretie na de aanvankelijke daling, samenvallend met de phase van herstel, pas langzaam te stijgen zodat zelfs in het tweede halfjaar na de ziekte nog een significante stijging was waar te nemen ten opzichte van de waarden gevonden in het eerste halfjaar. Het is de vraag of er enig verband bestaat tussen dit verschijnsel en de gevoelens van malaise waarover de patiënten, nog lang na een doorgemaakte infectieziekte, kunnen klagen. De 17 ks excretie toonde gedurende het beloop van de ziekte en van het herstel een wat vlakker maar in principe niet van de 17 kgs

excretie verschillend patroon. Men zal met deze waarnemingen rekening moeten houden, wanneer men bij patiënten om andere redenen een onderzoek wil instellen naar de bijnierschorsfunctie, waarbij een eventueel gevonden lage waarde dus nog beïnvloed kan zijn door een maanden daarvoor doorgemaakte ernstige infectieziekte.

In ons materiaal deden zich geen gevallen voor waar in een duidelijk verminderde resistentie ten opzichte van infecties kon worden waargenomen. Demogelijkheid , nader in te gaan op het door Zimmermann (1956, 1963) gestelde verband tussen een lage 17 ks excretie en een verminderde resistentie ten opzichte van infecties, heeft zich dus in de periode van het onderzoek niet voorgedaan.

Ook Mickerson (1959) vond bij patiënten, die opgenomen waren voor influenza A, kortere of langere tijd na de acute phase (niet nauwkeurig aangegeven), een lage excretie van metabolieten van cortisol in de urine. Er bleek een goede reactie op stimulatie met ACTH te bestaan. Hij concludeerde hieruit dat de duidelijke malaise, die na een doorgemaakte ernstige influenza kan optreden, verband houdt met een verminderde activiteit van de hypophyse. Het betrof hier echter patiënten die tevoren niet geheel gezond waren (3 patiënten hadden o. m. chronische bronchitis met emphyseem, 1 patiënt had kort tevoren een myocard infarct gehad). Zijn materiaal was dus niet goed te vergelijken met dat van ons. Ook bij enkele van onze patiënten hebben wij getracht de oorzaak na te gaan

van de (te) lage 17 kgs en 17 ks excretie gedurende de herstelphase van de ziekte. Hiertoe werd bij deze patiënten in de periode, waarin de 17 kgs excretie gering of zelfs subnormaal was, SU-4885 toegediend, dat door remming van de 11-hydroxylering in de bijnierschors de cortisol spiegel in het plasma doet dalen. Uit de resultaten is te concluderen dat - althans wat betreft het terugkoppelingsmechanisme - de functie van de hypophyse niet duidelijk was gestoord, terwijl ook het vermogen van de bijnierschors te reageren op endogene-ACTH stimulatie niet duidelijk was verminderd, daar de hierbij gevonden stijging van de 17 kgs en 17 ks excretie binnen het normale reactie patroon bleek te vallen.

De eveneens lage 17 kgs excretie maakt onwaarschijnlijk dat de lage 17 ks excretie alleen zou berusten op een verminderde secretie van testosteron en/of C19-steroiden uit de bijnierschors. Met onze methodiek kan geen inzicht worden verkregen in de secretie van corticosteron en zijn metabolieten. Er kon dus niet worden nagegaan of juist in deze phase wellicht een verandering van de samenstelling van het door de bijnierschors geproduceerde steroiden mengsel (ten gunste van corticosteron en ten nadele van cortisol) was opgetreden.

Een verklaring voor de bij meerdere van onze patiënten gevonden (te) lage 17 ks en 17 kgs excretie werd dus door ons onderzoek niet gegeven.

Zowel voor een nadere analyse naar de oorzaak van

de in de acute phase te hoge 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroiden spiegel in het bloed (vermeerderde secretie, sterke eiwitbinding, verminderde afbraak ?) als voor de (te) lage 17 kgs en 17 ks excretie in de urine tijdens de herstelphase, lijkt een onderzoek in de naaste toekomst naar de dagproductie van corticosteroiden met behulp van radioactieve steroiden gewenst.

SAMENVATTING

Het onderzoek, beschreven in dit proefschrift, had tot doel enige gegevens te verkrijgen over de functie van de bijnierschors tijdens en na een acute ernstige infectie ziekte.

Na een inleiding wordt in hoofdstuk I een kort overzicht gegeven van de literatuur. In hoofdstuk II wordt de gevolgde methodiek beschreven en zijn enkele gegevens vermeld over de onderzochte patiënten. In de hoofdstukken III, IV en V worden de resultaten weergegeven. Deze kunnen als volgt worden samengevat:

1. In overeenstemming met de gegevens in de literatuur bleek ook in ons materiaal de bloedspiegel van 17, 21 dihydroxy-20-keto-steroiden verhoogd op de dag dat de patiënten werden opgenomen. Er was geen samenhang tussen de hoogte van de bloedspiegel en factoren als het aantal ziektedagen vóór de opneming en het niveau van de bloedconcentratie in de phase van herstel. Met bloedbepalingen op verschillende tijdstippen kon niet worden aangetoond dat een dagrhythme - zo dit in deze phase al bestond - van bepalende invloed is geweest op de hoogte van de gevonden ste-

roidenconcentraties in het bloed. Het leek eerder waarschijnlijk dat de gevonden verhoogde bloedspiegel, op welk tijdstip ook bepaald, samenhing met de ernst van de ziektetoestand op het moment van de bloedafname. Er waren geen aanwijzingen dat de biologische half-waarde tijd van - in pharmacologische hoeveelheden - toegediend cortisol bij een zelfde patiënt in de zieke phase langer zou zijn dan die in de phase van herstel.

2. Indien deze tijdig kon worden bepaald bleek ook de 17 kgs excretie in de acute phase te zijn verhoogd. Deze bevinding steunt de conclusie dat ook bij ernstige infectieziekten de totale dagproductie van glucocorticoiden in de acute phase is toegenomen.

3. Uit het beloop van de 17 kgs excretie is te concluderen dat de aanvankelijk toegenomen bijnierschors-activiteit weer snel afnam in de periode dat van ververbetering in de klinische toestand kon worden gesproken.
Omstreeks de tijd dat de temperatuur was gedaald tot beneden 38°C bereikte de 17 kgs excretie in sommige gevallen subnormale waarden.
In ons materiaal was opvallend dat het zeer lang kon duren voordat de secretie van glucocorticoiden weer was gekomen tot een voor de betrokken patiënt normaal niveau. Althans de excretie van 17 kgs bleek bij

de onderzochte patiënten in het tweede halfjaar na de ziekte nog significant te zijn gestegen.
De 17 ks excretie volgde in grote lijnen een zelfde - zij het wat vlakker - patroon als dat van de 17 kgs excretie.

4. Door middel van toediening van SU-4885 werden aanwijzingen verkregen dat in de gevallen, waarbij de excretie van metabolieten van cortisol zeer was gedaald, de lage excretie niet berustte op een onvermogen van de bijnierschors meer glucocorticoiden te secerneren. Het vermogen van de hypophyse meer ACTH uit te scheiden indien de plasmacortisolspiegel was verlaagd, bleek evenmin te zijn gestoord. Een verklaring van de (te) lage 17 kgs en 17 ks excretie tijdens de herstelphase leek dus niet gevonden te kunnen worden in één van deze twee factoren in het hypothalamus-hypophyse-bijnierschors systeem. Met het onderzoek kon uiteraard niet worden nagegaan of in deze phase een verandering in de verhouding cortisol/corticosteron in het bijnierschorssecreet heeft plaats gevonden.

SUMMARY

The purpose of the investigation described in this thesis was to obtain data concerning the function of the adrenal cortex during and after a serious acute infectious disease.

Following the introduction, Chapter I gives a brief review of the literature. Chapter II contains a description of the methods used, together with some data pertaining to the patients. Chapters III, IV and V report the results. These results may be summarized as follows:

1. In agreement with the data in the literature, in our material the blood level of 17, 21-dihydroxy-20-ketosteroids was elevated on the day of the patients' admission. There was no correlation between the height of this level and factors such as the number of days the patient had been sick before admission or the level of the blood concentration in the convalescent phase. Determinations made in the blood at various times provided no evidence that a diurnal rhythm - if present in this phase - had a decisive influence on the level of the steroid concentrations found in the blood. It seemed more likely that the elevated blood level, no matter when it was determined, was related to the severity of the disease at the moment when the sample was taken. No indications were found that the biological half-time of administered cortisol - given in pharmacological quantities - was longer in the

disease phase than in the convalescent phase in a given patient.

2. When the 17-ketogenic steroid excretion could be determined early in the acute phase, it was also elevated. This finding supports the conclusion that in serious infectious disease the total daily production of glucocorticoids is also increased in the acute phase.
3. It may be concluded from the course of the 17-ketogenic steroid excretion that the originally increased activity of the adrenal cortex decreased rapidly in the period in which there was improvement in the clinical condition. Around the time in which the temperature had dropped to below 38°C., the 17-ketogenic steroid excretion in some cases reached subnormal values.

   In our material it was striking that considerable time was required before the secretion of glucocorticoids - as indicated by the excretion of 17-ketogenic steroids - returned to a level which was normal for the particular patient- The excretion of 17-ketogenic steroids still rose significantly during the second half of the year following recovery. Along broad lines, the 17-ketosteroid excretion followed the same - albeit less strongly expressed - pattern as that of the 17-ketogenic steroid excretion.
4. Evidence was obtained, by the administration of SU-4885, that in the cases with decreased excretion of metabolites of cortisol, the low excretion did not depend upon an incapacity of the adrenal cortex to secrete more glucocorticoids.

The capacity of the hypophysis to secrete more ACTH when the plasma cortisol level was reduced also appeared to be undisturbed. An explanation of the (too) low excretion of 17-ketogenic steroids and 17-ketosteroids during the convalescent phase was therefore not found in one of these two factors in the hypothalamo-adenohypophysial-adrenocortical system. It was, of course, impossible to determine in this investigation whether in this phase a change had taken place in the ratio of cortisol to corticosterone in the adrenal cortex secretion.

LITERATUUR

Andrewes, F. W. : Lancet 1 , 1172, 1906.

Appleby, J. I., Gibson G., Norijmberski, J. K., Stubbs, R. D. : Biochem. J. 60, 453, 1955.

Ayers, P. J., Gould, R. P., Simpson, S. A., Tait, J. F. : Proc. Biochem. Soc. 63, 19, 1956.

Bamatter, F. : Jb. Kinderheilk. 142, 129, 1934.

Bennett Jr, I. L., Finland,M., Hamburger, M., Kass, E. H. Lepper, M., Waisbren, B. A. : Trans. Ass. Amer. Phycns. 75, 198, 1962.

Birke, G. ; Acta med. scand. Suppl. 291, 1954.

Birke, G., Duner, H., Liljedahl, S. O. , Pernow, B., Plantin, L. O., Troell, L. : Acta chir. scand. 114, 87, 1957.

Birke, G., Diczfalusy, E., Plantin, L. O. : J. clin. Endocr. 18, 736, 1958.

Borden, C. W., Hall, W. H., Gold, D. : J. Lab. clin. Med. 42, 787, 1953.

Brown, H., Willardson, D. G., Samuels, L. T., Tyler, F. H. : J. clin. Invest. 33, 1524, 1954.

Chung Wu, Mason, H. L. : Proc. Mayo Clin. 33, 627, 1958.

Cope, C. L., Black, E. G. : Brit. med. J. 2, 1117, 1959.

Diczfalusy, E., Plantin, L. O., Birke, G., Westman, A. : Acta endocr. 18, 356, 1955.

Dorfman, R. I. : Fourth International Congress of Biochemistry, Vienna, 1958. Sympos. no. IV.

Ferguson, J. H., Chapman, D. D. : Amer. J. Path. 24, 763, 1948

Firor, W. M. : South. M. J. 30, 306, 1937.

Forbes, A. P., Donaldson, E. C., Reifenstein Jr., E.C. ,Albright, F. : J. clin. Endocr. 7, 264, 1947.

Franksson, C., Gemzell, C. A. : Acta chir. scand. 106, 24, 1954.

Franksson, C., Gemzell, C. A., v. Euler, U. S. : J. clin. Endocr. 14, 608, 1954.

Frenkel, J. K. in : The adrenal cortex (Ed. Moon, H. D.), New York 1961.

Friderichsen, C. : Jb. Kinderheilk. 87, 109, 1918.

Fukushima, D. K., Bradlow, H. L., Hellman, L., Zumoff, B., Gallagher, T. F. : J. biol. Chem. 235, 2246, 1960.

Gallagher, T. F. : Fourth International Congress of Biochemistry, Vienna, 1958. Sympos. no. IV.

Gold, E. M., Di-Raimondo, V. C., Forsham, P. H. : Metabolism 9, 3, 1960.

Grant, J. K., Forrest, A. P. M. : Acta endocr. 26, 195, 1957.

Guillemin, R., Clayton, G. W., Smith, J. D., Lipscomb, H. S.: Endocrinology 64, 349, 1958.

Hamburger, C.: Acta endocr. 1, 19, 1948.

Hechter, O., Pincus, G.: Physiol. Rev. 34, 459, 1954.

Holub, D. A., Jailer, J. W., Kitay, J. I., Frantz, A. G.: J. clin. Endocr. 19, 1540, 1959.

Holzbauer, M.: J. Physiol. 139, 294, 1957.

Houssay, B. A. in: Physiologie humaine, Editions Médicales Flammarion, Paris, 1950.

Ingle, D. J.: Amer. J. Physiol. 139, 460, 1943.

Jahn, J. P., Boling, L., Maegher, T. R., Peterson, H. H., Thomas, G., Fisher, B. M., Thill, A. E., Leovy, W. A., Balch, H. E., Kinsell, L. W.: J. Pediat. 44, 640, 1954.

Kass, E. H., Finland, M.: Ann. Rev. Microbiol. 7, 361, 1953.

Kass, E. H., Finland, M.: Ann. Rev. Med. 8, 1, 1957.

Kinnunen, O.: Acta endocr. 8, 385, 1951.

Kitay, J. I., Holub, D. A., Jailer, J. W.: Endocrinology 65, 548, 1959.

Krehl, L. in: Pathologische Physiologie, Verlag von F. C. W. Vogel, Leipzig, 1914.

Liddle, G. W., Island, D., Lance, E. M., Harris, A. P.: J. clin. Endocr. 18 906, 1958.

Liddle, G. W., Estep, H. L., Kendall, J. W., Williams, W. C., Townes, A. W.: J. clin. Endocr. 19, 875, 1959.

Long, C. N. H.: Recent Progr. Hormone Res. 7, 75, 1952.

Margaretten, W., McAdams, A.: Am. J. Med. 25, 868, 1958.

Melby, J. C., Spink W. W.: J. clin. Invest. 137, 1791, 1958.

Melby, J. C., Egdahl, R. H., Bossemaier, I. C., Spink, W. W.: Lancet 1, 441, 1959.

Mickerson, J. W.: Lancet 1, 1118, 1959.

Migeon, C. J., Tyler, F. H., Mahoney, J. P., Florentin, A. A., Castle, H., Bliss, E. L., Samuels, L. T.,: J. clin. Endocr. 16, 622, 1956.

Mills, I. H., Schedl, H. P., Chen, P. S., Bartter, F. C.: J. clin. Endocr. 20 495, 1960.

M. R. C. committee on clinical endocrinology: Lancet 2, 585, 1951.

Mulrow, P. J., Cohn, G. L.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 101, 731, 1959.

Nelson, D. H., Samuels, L. T., Willardson, D. G., Tyler, F. H.: J. clin. Endocrinol. 11, 1021, 1951.

Norymberski, J. K.: Nature 170, 1074, 1952.

Norymberski, J. K., Stubbs, R. D., West, H. F.: Lancet 1, 1276, 1953.

Perkoff, G. T., Sandberg, A. A., Nelson, D. H.: A. M. A. Arch. intern. Med. 93, 1, 1954.

Peterson, R. E., Wijngaarden, J. B., Guerra, S. L., Brodie, B. B., Bunim J. J.: J. clin. Invest. 34, 1779, 1955.

Peterson, R. E., Karrer, A., Guerra, S. L.: Analyt. Chem. 29, 144, 1957.

Peterson, R. E., Nokes, G., Chen, P. S., Black, R. L.; J. clin. Endocr. 20, 495, 1960.

Plantin, L. O., Birke, G.: Acta med. scand. 148, Suppl. 291, 7, 1954.

Porter, C. C., Silber, R. H.: J. biol. Chem. 185, 201, 1950.

Rich, A. R.: Bull. Johns Hopk. Hosp. 74, 1, 1944.

Sandberg, A. A., Eik-Nes K., Migeon, C. J., Samuels, L. T.: J. clin. Endocr. 16, 1001, 1956.

Sandberg, A. A., Slaunwhite Jr., W. R.: J. clin. Invest. 38, 290, 1959.

Sarason, E. L.: A. M. A. Arch. intern. Med. 71, 702, 1943.

Sayers, G., Sayers, M. A.: Recent Progr. Hormone Res. 2, 81, 1948.

Sayers, G.: Physiol. Rev. 30, 241, 1950.

Schaberg, A.: Proefschrift, Leiden 1951.

Schindler, W. J.: Proc. roy. Soc. Med. 55, 125, 1962.

Schuster, S.: Proc. roy. Soc. Med. 55, 131, 1962.

Selye, H.: Nature 138, 32, 1936.

Selye, H.: Endocrinology 21, 169, 1937.

Selye, H., Dosne, C., Bassett, L., Whittaker, J.: Canad. med. Ass. J. 43, 1, 1940.

Selye, H.: Acta Inc. Montreal 1950.

Silber, R. H., Porter, C. C.: J. biol. Chem. 210, 923, 1954.

Skelton, F. R. in: The adrenal cortex (Ed. Moon, H. D.), New York 1

Spink, W. W., Anderson, D.: J. clin. Invest. 33, 540, 1954.

Spink, W. W.: Ann. int. Med. 53, 1, 1960.

Stachenko, J., Giroud, C. J. P.: Endocrinology 64, 730, 1959 A.

Stachenko, J., Giroud, C. J. P.: Endocrinology 64, 743, 1959 B.

Symington, T., Currie, A. R., Curran, R. C., Davidson, J. N.: Ciba Found. Coll. Endocr. 8, 70, 1955.

Symington, T., Davidson, J. N.: Scot. med. J. 1, 15, 1956.

Symington, T., Duguid, W. P., Davidson, J. N.: J. clin. Endocr. 16, 580, 1956.

Thomas, L., Good, R. A.: J. exp. Med. 95, 409, 1952.

Thomas, L. E., Smith, R. T.: Proc. Soc. exp. Biol. 86, 810, 1954.

Thomas, L.: Bull. N. Y. Acad. Med. 31, 485, 1955.

Tobin, J. L.: Amer. J. med. Sci. 231, 241, 1956.

v. d. Vies, J.: Acta physiol. pharmacol. neerl. 5, 364, 1957.

v. d. Vies, J.: Persoonlijke mededeling, 1959.

Waterhouse, R.: Lancet 1, 577, 1911.

Weinberg, L. D., McGavack, T. H.: New Engl. J. Med. 232, 95, 1945.
Zimmermann, W.: Zbl. Bakt., I Abt. Orig. 167, 140, 1956.
Zimmermann, W., Brühl, P.: Z. Hyg. Infekt.-Kr. 149, 194, 1963.

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.